

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

Speciální chemicko-biologické obory  
Molekulární biologie a biochemie organismů



**Tereza Hlaváčková**

Úloha kožních kmenových buněk ve stárnutí a regeneraci  
Role of skin stem cells in aging and regeneration

**Bakalářská práce**

Školitel: Mgr. Kristina Nešporová, PhD.

Praha, 2020

### **Poděkování**

Poděkovat bych chtěla především své školitelce Mgr. Kristině Nešporové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady ale také za trpělivost v průběhu sepisování této práce. Dále bych ráda poděkovala své rodině za podporu během mého studia.

### **Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 25. 5. 2020

.....

Tereza Hlaváčková

## **Abstrakt**

Kůže je přirozenou a účinnou bariérou těla proti nežádoucím vlivům vnějšího prostředí. Což ale vyžaduje její neustálou regeneraci a v případě poškození i reparaci. K tomu přispívají kmenové buňky uložené v epidermis, vlasových folikulech i dermis. Podobně jako u jiných kmenových buněk i tyto se vyznačují tzv. kmenovostí, tedy schopností sebeobnovy a diferenciací do jiných buněčných typů, čímž zajišťují zdroj buněk pro kožní obnovu. Během stárnutí dochází vlivem vnitřních i vnějších faktorů (hlavně díky oxidativnímu stresu a poškození DNA) ke ztrátě integrity a funkčnosti kožní bariéry. Tento proces souvisí mimo jiné i se snížením počtu a funkce kožních kmenových buněk. V dnešní době je vyvíjena řada léčebných přístupů, které kmenové buňky využívají, zároveň je ale zřejmé, že i jejich původ významně ovlivňuje jejich využití. Je tedy nezbytné dobře pochopit specifické vlastnosti funkce právě kožních kmenových buněk, chceme-li vlastnosti kůže modulovat.

Cílem této práce je vypracování přehledné literární rešerše, které obsáhne téma kožních kmenových buněk, jejich úlohy v procesech regenerace a reparace a jejich roli ve stárnutí. Práce se bude také věnovat problematice kožních případně i jiných typů kmenových buněk pro regulaci či zlepšení patofyziologických stavů kůže, včetně projevů (foto)stárnutí, hojení ran, imunitní signalizace, regulace vlasového růstu, melanogeneze či karcinogeneze.

**Klíčová slova:** kůže, stárnutí kůže, hojení ran, fotostárnutí, ultrafialové záření, poškození DNA, kožní kmenové buňky, epidermální kmenové buňky, kmenové buňky vlasového folikulu

## **Abstract**

Skin is a natural and effective barrier of the body against the adverse effects of the external environment. Which, however, requires its constant regeneration and, in the event of damage, repair. Stem cells stored in the epidermis, hair follicles and dermis contribute to this. As with other stem cells, these are characterized by so-called stemness, ie the ability to self-renew and differentiate into other cell types, thus providing a source of cells for skin renewal. During aging, due to internal and external factors (mainly due to oxidative stress and DNA damage), the integrity and functionality of the skin barrier are lost. This process is related, among other things, to a reduction in the number and function of skin stem cells. Today several therapeutic approaches are being developed that use stem cells, but at the same time, it is clear that their origin also significantly affects their use. Therefore is necessary to have a good understanding of the specific properties of the function of skin stem cells to modulate the properties of the skin.

This work aims to create a review of scientific literature, which covers the topic of skin stem cells, their role in the processes of regeneration and repair and their role in aging. The work will also address the issue of the skin or other types of stem cells for the regulation or improvement of pathophysiological conditions of the skin, including manifestations of (photo-) aging, wound healing, immune signaling, regulation of hair growth, melanogenesis or carcinogenesis.

**Key words:** skin, skin aging, wound healing, photoaging, ultraviolet radiation, DNA damage, skin stem cells, epidermal stem cells, hair follicle stem cells

# Obsah

ÚVOD.....	1
<b>1. Kůže.....</b>	<b>2</b>
1.1. Stavba kůže.....	3
1.1.1. Pokožka (EPIDERMIS).....	3
1.1.2. Škára (DERMIS, corium).....	6
1.1.3. Podkožní vazivo (HYPODERMIS, tela subcutanea).....	6
1.2. Funkce kůže.....	7
1.3. Stárnutí kůže.....	7
1.3.1. Rozdíly mezi fotostárnutím a chronologickým stárnutím.....	9
1.3.2. Vnitřní faktory.....	9
1.3.3. Vnější faktory.....	10
1.4. Hojení ran.....	11
1.4.1. Hojení akutní rány.....	12
1.4.2. Chronické rány a hojení.....	13
<b>2. Kmenové buňky.....</b>	<b>13</b>
2.1. Definice a vlastnosti kmenových buněk.....	13
2.1.1. Niche.....	16
2.2. Kožní kmenové buňky.....	17
2.2.1. Kmenové buňky epidermis.....	17
2.2.2. Dermální kmenové buňky.....	22
2.2.3. Hypodermální kmenové buňky.....	23
2.2.4. Karcinogeneze kůže.....	23
<b>3. Cirkadiánní rytmy kůže a příčiny stárnutí kožních kmenových buněk.....</b>	<b>24</b>
3.1. Cirkadiánní rytmy kůže.....	24
3.2. Stárnutí kožních kmenových buněk.....	26
<b>4. Kmenové buňky v regeneraci kůže.....</b>	<b>31</b>
ZÁVĚR.....	33
LITERATURA.....	35

## Seznam použitých zkratk

ADSC	adipose-derived stem cell	kmenové buňky odvozené z tukové tkáně
AGE	advanced glycation end product	konečné produkty pokročilé glykace
BMAL	brain and muscle arnt- like protein	brain and muscle arnt- like protein
BMP	bone morphogenetic protein	kostní morfogenetický protein
CSC	cancer stem cell	nádorová kmenová buňka
DNA	deoxyribonucleic acid	deoxyribonukleová kyselina
EGF	epidermal growth factor	epidermální růstový faktor
EPM	ectopically pigmented	ektopicky pigmentovaná
EpSC	epidermal stem cell	epidermální kmenová buňka
FGF	fibroblast growth factor	růstový faktor fibroblastů
hfPS	hair follicle pluripotent stem cell	pluripotentní kmenová buňka vlasového folikulu
HFSC	hair follicle stem cell	kmenová buňka
Hh	hedgehog	hedgehog
IFE	interfollicular epidermis	interfolikulární epidermis
IFE-SC	interfollicular epidermis stem cell	kmenová buňka interfolikulární epidermis
IGF	insulin like growth factor	insulinu podobný růstový faktor
iPSC	induced pluripotent stem cell	indukovaná pluripotentní kmenová buňka
McSC	melanocyte stem cell	kmenová buňka melanocytu
MCSP	melanoma chondroitin sulfate proteoglycan	melanom chondroitin sulfát proteoglykan
MSC	mesenchymal stem cell	mesenchymální kmenová buňka
NSC	neural stem cell	nervová kmenová buňka
PMEL	premelanosomal protein	premelanosomální protein
ROS	reactive oxygen species	reaktivní formy kyslíku
SC	stem cell	kmenová buňka
SCN	suprachiasmatic nukleus	suprachiasmatické jádro
SGSC	sebaceous gland stem cell	kmenová buňka potní žlázy
SKP	skin-derived precursor	prekurzor odvozený z kůže
syn.	-	synonymum
TAC	transit amplifying cell	přechodně dělicí se buňka
TGF-β	transforming growth factor beta	transformující růstový faktor beta
UVR (UV)	ultraviolet radiation	ultrafialové záření
Wnt	Wingless/Int	Wingless/Int

## ÚVOD

Orgány nemusíme vždy myslet pouze ty útrobní, jako jsou srdce nebo ledviny, ale i kůže, která tvoří kolem 15 % celkové hmotnosti těla. (Mufti & al., 2015) Slouží jako ochranná bariéra před patogeny, zabraňuje dehydrataci, syntetizuje vitamin D a má význam i jako termoregulační jednotka. Skládá se ze třech vrstev: epidermis, dermis a hypodermis. Nejspodnější vrstva hypodermis, tvořená tukovou tkání, má izolační a tlumivé funkce. Přestupuje v nejhustší vrstvu, dermis, obsahující různé receptory a komponenty umožňující pevnost a elasticitu kůže (kolagenní a elastinová vlákna). Nejsvrchnější vrstvou je tenká epidermis, tvořená keratinocyty, buňkami, které na povrchu v průběhu své migrace ze spodu bazální vrstvy na povrch postupně keratinizují a vytváří tak keratinizovanou vrstvu, ochrannou bariéru kůže. Na povrchu jsou již zcela keratinizované a mrtvé buňky, jež se pravidelně odlupují a jsou nahrazovány mladšími. Toto cyklické obnovování namáhané svrchní vrstvy kůže je zajištěno epidermálními kmenovými buňkami. Ty zajišťují nejen obnovu keratinizující epidermis, ale i růst vlasů či chlupů a jsou významnými regulátory hojení ran. (Chen & al., 2009; Ojeh & al., 2015)

Význam těchto nediferenciovaných buněk vyplývá ze skutečnosti, že se dokáží přeměnit na jeden či více dalších typů buněk dané tkáně v tomto případě, kůže. Multi- či dokonce totipotence (tedy schopnost přeměnit se na více buněčných typů) je jedním z hlavních znaků všech kmenových buněk a společně se schopností sebeobnovy jsou základem pro tzv. „kmenovost“ těchto speciálních buněk.

Pro formování a aktivitu dospělých kmenových buněk je stěžejní speciální mikroprostředí tzv. niche. Pokud je z něj buňka odebrána, nebo dojde ke zničení niche, kmenová buňka ztrácí svou „kmenovost“ a diferencuje na běžnou buňku tkáně. Tento fakt umožňuje dělení a diferenciaci buněk, protože v rámci niche se nedělí. V kůži byly identifikovány tři různé niche: bazální vrstva epidermis, bulbus vlasového folikulu a základ mazových žláz. (Ojeh & al., 2015; Wabik & Jones, 2015)

Naše tělo stárne již od okamžiku, kdy se narodíme, a vnější vlivy tento proces urychlují. Celé naše tělo je pokryto kůží, která se tak stává bariérou mezi vnějším a vnitřním prostředím těla. Některé její exponované části bývají často poškozovány a jsou vystaveny neustálému vlivu ultrafialového záření. UV záření je hlavní příčinou poškození DNA, což v důsledku může znamenat zničení niche, a tak i úbytek kmenových buněk nutných pro regeneraci. (Panich & al., 2016)

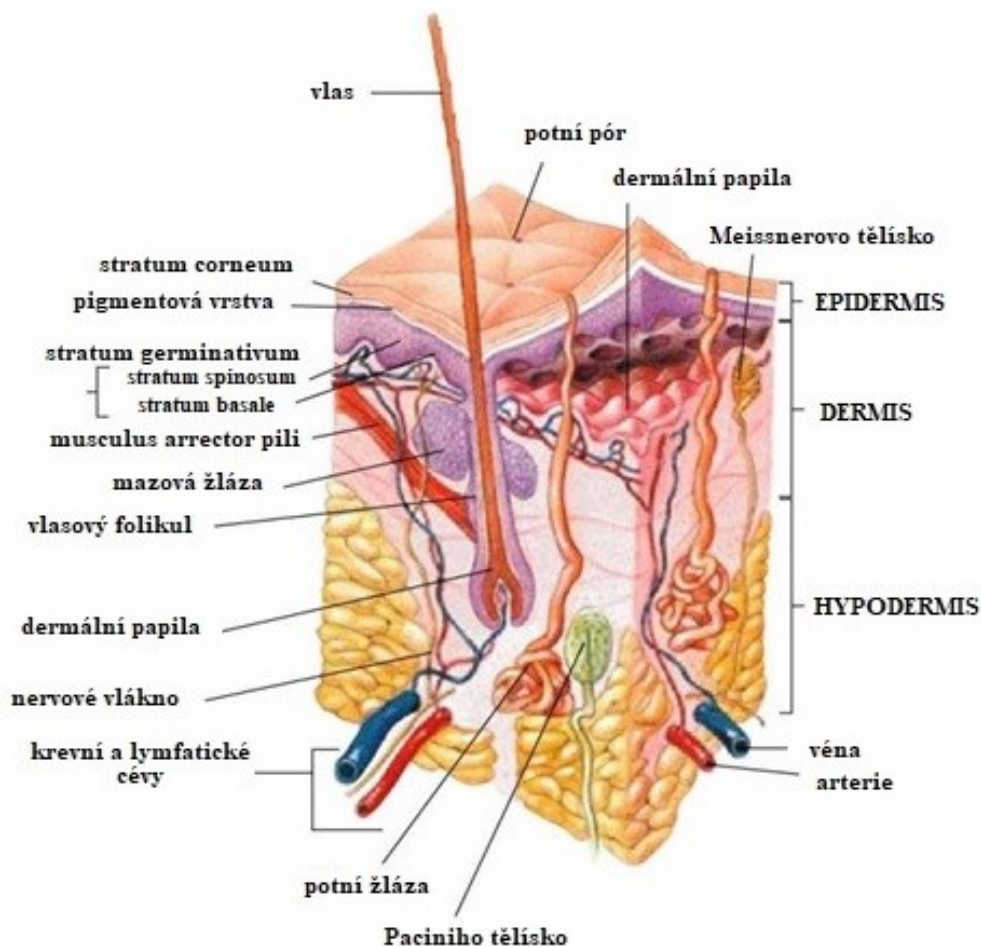
V současnosti se již kmenové buňky k léčbě určitých onemocnění používají, ale zatím poznatky nestačí na využití jejich celého potenciálu. Do budoucna by se tak mohlo s jejich pomocí podařit vyléčit závažná onemocnění, nahradit poškozenou tkáň nebo zpomalit stárnutí. Práce si klade za cíl vypracovat ucelený přehled o dosavadních znalostech o kožních kmenových buňkách a jejich funkci v regeneraci, hojení ran a stárnutí.

## 1. KŮŽE

Integument, tedy tkáň povrchu těla, kam patří kůže, ale i sliznice zažívacího, dýchacího, vylučovacího a rozmnožovacího ústrojí, představuje první obrannou linii před vnějšími vlivy a patogeny. Vícevrstevná kůže (cutis) je dvojího původu a různých funkcí. Povrch kůže u dospělého člověka se pohybuje v rozmezí 1,6 - 2 m<sup>2</sup> v závislosti na výšce a konstituci, přičemž tloušťka závisí na anatomické lokalizaci a výživě a je v rozmezí 1,5 - 4 mm. V místech tělních otvorů kůže plynule přechází v slizniční povrch. Komplexní stavba umožňuje přizpůsobit se změnám tvaru těla.

Kůže se skládá ze tří vrstev. Nejsvrchnější epidermis, odvozená od ektodermu, nejprve vzniká v zárodku jako jednovrstevný epitel a až v pozdějších stádiích narůstá proliferací buněk basální vrstvy počet epitelových vrstev. Do epidermis také migrují buňky z mezodermu (Langerhansovy buňky) a neurální lišty (melanocyty a Merkelovy buňky). Pod epidermis se nachází dermis s hypodermis, jež se diferencují z mesenchymu. Ve vývojových stádiích buňky dermis hrají důležitou roli v uspořádání a proliferaci buněk epidermis. Deriváty kůže pochází z buněk epidermis, které se jako pupeny a čepy zanořují do dermis a následně diferencují.





Obr. 1: Anatomie lidské kůže. Yousef & Sharma, 2018 - upraveno

## 1.1. STAVBA KŮŽE

### 1.1.1. POKOŽKA (EPIDERMIS)

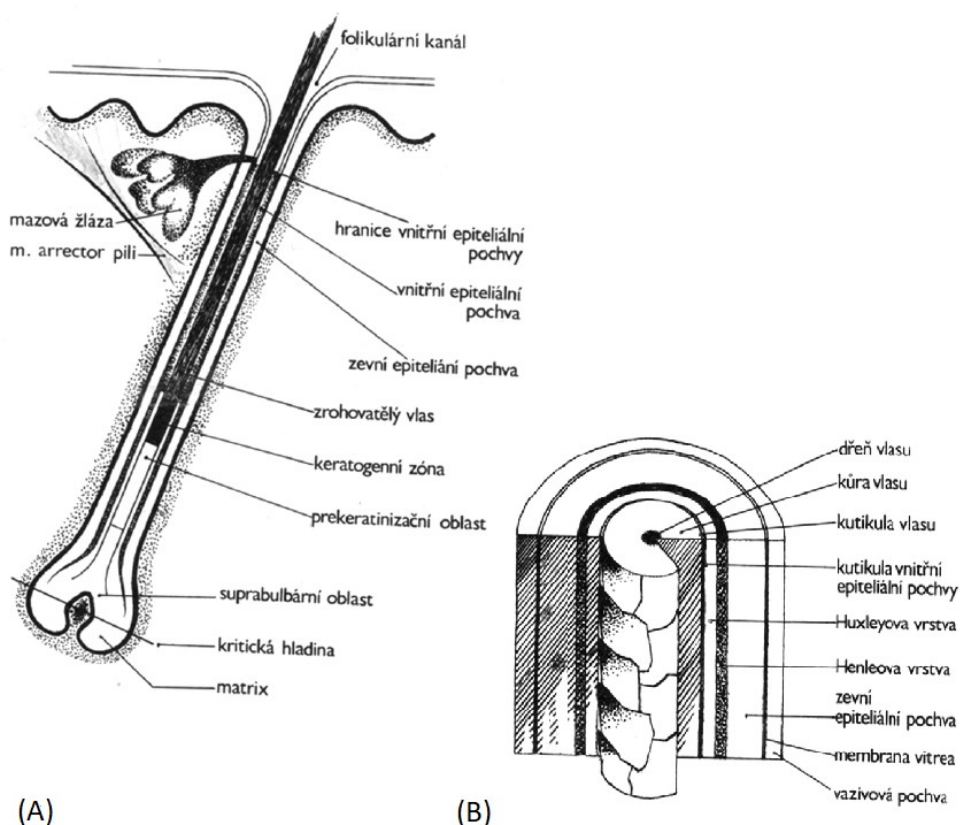
Svrchní vrstvou kůže je vrstevnatá epidermis, jejíž povrch tvoří šupinatá zrohovatělá vrstva (stratum corneum). Epidermis tvoří především keratinocyty a dendritické buňky (Langerhansovy a Gransteinovy buňky). Pro vnímání doteku jsou v epidermis uloženy Merkelovy disky, nacházející se buď izolovaně nebo spojené s epiteliálními nervovými zakončeními. (Winkelmann & Breathnach, 1973) Také sem migrují z neurální lišty melanocyty. Nejpočetnějšími buňkami jsou však keratinocyty, které se liší od dendritických buněk mezibuněčnými spoji a větším množstvím cytoplasmy. Podle morfologie a lokalizace keratinocytů lze rozdělit pokožku na čtyři až pět vrstev v závislosti na umístění. Stratum basale je nejspodnější vrstvou a odpovídá za tvorbu

nových buněk. Tvoří ji jedna vrstva palisádovitě uspořádaných keratinocytů a melanocytů tvořících zrnka melaninu. Následuje vrstva stratum spinosum, jejíž buňky jsou propojeny desmozomy. V této vrstvě se nacházejí cytokeratinová filamenta, jež zajišťují mechanickou odolnost kůže. V další vrstvě, stratum granulosum, jsou vytvářeny proteinem keratohyalinem cytoplazmatické granule, jež se podílí na dehydrataci buňky. Hlavní funkcí je zesilování keratinových vláken, čímž se vytváří pevně propojená vrstva poskytující ochrannou bariéru. V oblastech silné kůže, na ploskách nohou a dlaních, se nachází po stratum granulosum další vrstva, stratum lucidum. Keratinocyty jsou zde vyplněny produktem keratohyalinu, eleidinem, který je dále přeměněn na keratin. Poslední vrstvou je vrstva rohovitých a dehydratovaných buněk, stratum corneum. (Mufti & al., 2015; Freeman & Sonthalia, 2019)

Keratinocyty tvoří kolem 80% z celkového počtu buněk v epidermis. Vznikají diferenciací epidermálních kmenových buněk ze stratum basale přisedlých k bazální lamině. Tvoří jednu vrstvu buněk, která se neustále dělí a dává vzniku budoucím keratinocytům. (Mufti & al., 2015) V procesu keratinizace, kdy nové buňky vytlačují starší směrem k povrchu, dochází k oplošťování, dehydrataci a ztrátě buněčných organel a naopak přibývá keratinu v cytoplasmě. Tento cytoskeletální protein prochází mezibuněčnými spoji a díky tomu jsou spolu keratinocyty pevně spojeny a mohou tak tvořit nepropustnou vrstvu. Na konci svého putování se stávají plochými šupinkami, které se z povrchu jednoduše odloupnou. Celý cyklus trvá asi tři týdny, ale mění se s věkem. Mladší kůže se obnovuje častěji, keratinocyty doputují na povrch asi po dvaceti dnech, přičemž u starší kůže trvá cyklus zhruba o deset dnů déle. (Grove & Kligman, 1983)

Melanocyty jsou též přisedlé na bazální lamině a svými výběžky zasahují do svrchnějších vrstev epidermis, kam transportují zralé melanozomy. V melanozomech se syntetizuje pigment melanin polymerizací tyrosinu. Melanin chrání buňky před poškozením DNA ultrafialovým zářením. Při expozici slunečního záření melanin ztmavne, přičemž později obnoví svou původní barvu. Dlouhodobější expozice UV vede k přibývání melanocytů a trvalejšímu ztmavnutí pokožky. (Trojan & et al., 2003) Na barvě kůže se dále podílí hodnota pH. Produkce melaninu v melanocytech je ovlivněna aktivitou tyrosinázy, jejíž optimum je při neutrálním pH. Tento jev souvisí s rozdílnou barvou kůže různých etnických skupin. Melanosomy u černochů mají pH neutrální a tyrosináza je plně aktivní, zatímco u bělochů je aktivita tyrosinázy snížena kyselým pH. (Ancans & al., 2001; Fuller & al., 2001)

V epidermis se nachází také specializované kožní dendritické buňky. Langerhansovy buňky sem migrují z kostní dřeně a uplatňují se v imunitních reakcích kůže. Uloženy jsou ve stratum spinosum, ale jejich výběžky zasahují mezi keratinocyty. Zachycují škodlivé látky pronikající kůží a prezentují je lymfocytům, jejich funkce je tedy podobná jako u makrofágů. Intenzivní UV ozáření způsobuje snížení počtu těchto buněk a kůže je náchylnější k poškození. (Kwon & al., 2008) Do imunitních reakcí jsou zapojeny i Gransteinovy buňky, které se také řadí mezi antigen-prezentující buňky.



**Obr. 2: Řez anagenním folikulem. (A) Vertikální řez. (B) Průřez střední částí.** Kučerová & al., 2012 - upraveno

Součástí epidermis jsou též kožní adnexa: mléčná žláza, potní a mazové žlásky, nehty a vlasy. Z hlediska kmenových buněk je nejzajímavější vlasový folikul, ze kterého vyrůstá vlas či chlup. Tyto keratinizované struktury jsou z části zanořeny do kůže uvnitř folikulu, kde začínají mírným rozšířením, tzv. vlasovou cibulkou. Do ní se zespodu noří část vazivové pochvy (vlasové papily) s cévním zásobením. Uvnitř vlasu se nachází dřev, tvořená ne zcela keratinizovanými buňkami, povrch je tvořen kůrou ze zcela keratinizovaných buněk. Vlasový folikul se skládá z vnější a vnitřní epitelové vrstvy (Obr.2). Vnější epitelovou vrstvu tvoří buňky epidermis, která se zanořuje do

dermis okolo kořenu vlasu. Vnitřní epitelová pochva se diferencuje z vlasové cibulky a skládá se ze tří vrstev: kutikula pochvy, Huxleyova vrstva a Henleyova vrstva. (Kučerová & al., 2012)

### **1.1.2. ŠKÁRA (DERMIS, corium)**

Dermis (škára) je bohatě prokrvená vazivová tkáň. Kromě velkého množství cév se zde vyskytují lymfatické cévy, smyslové receptory, fibroblasty, tukové buňky a dermální kmenové buňky. Fibroblasty produkují mezibuněčnou hmotu neboli extracelulární matrix, jejíž součástí jsou především vlákna kolagenu. Ten je společně s elastinem hlavní složkou škáry. Díky nim je kůže pevná, ohebná, pružná a odolná vůči tlaku. Kolagen je nejhojnějším proteinem, přičemž v kůži je nejrozšířenější typ I. Struktura kolagenu je fibrilární a skládá se z několika podjednotek tropokolagenu (tři polypeptidické řetězce se vzájemně ovíjejí a tvoří tyčinkovité uspořádání). Propůjčuje kůži pevnost, zatímco elastin, kterého je méně než 1%, zase pružnost. K udržení objemu kůže pak přispívá kyselina hyaluronová. Přestože nejsou zatím všechny funkce hyaluronanu zcela prozkoumané, již se ví, že má své uplatnění v procesech rané embryogeneze při organizaci tkání a buněčné proliferaci, také má vliv na diferenciaci a migraci buněk založených na mechanismech buněčné signalizace přes specifické buněčné receptory jako např. CD44. Hyaluronan ovlivňuje také metabolismus a bioenergetiku buněk. (Solis & al., 2012)

Další složkou dermis jsou již zmíněné smyslové receptory, které se podílejí na vnímání bolesti a kožním cití. Kromě Merkelových buněk nacházejících se v epidermis, zde končí většina nervových zakončení. Nociceptory uložené ve škáře slouží pro vnímání bolesti a jedná se o mechanoreceptory s vysokým prahem citlivosti k bolestivým podnětům. K vnímání dotyku a tlaku slouží receptory jako Meissnerova tělíska v papilách škáry, Krauseho tělíska, Vater-Paciniho tělíska a v hlubších vrstvách pak Ruffiniho tělíska. K vnímání teploty jsou ve škáře umístěné termoreceptory. Přestože receptory mohou preferovat určité stimulace, tak většina reaguje na více podnětů.

### **1.1.3. PODKOŽNÍ VAZIVO (HYPODERMIS, tela subcutanea)**

Hypodermis neboli podkožní vazivo je nejspodnější vrstvou kůže. Nachází se zde cévy, nervy, potní žlázy a vazivo. Jedná se o nejtlustší vrstvu, přičemž tloušťka se mění v závislosti na lokaci. Její důležitou funkcí je právě tepelná izolace a energetická

zásoba, kterou zajišťuje tuková tkáň. Tato tkáň je mezenchymálního původu a nachází se zde právě mezenchymální kmenové buňky. Dále zajišťuje spojení kůže se svalem a kostí a v této vrstvě stejně jako v dermis se nachází Vater-Paciniho tělíska a buňky imunitního systému, lymfocyty a makrofágy.

## **1.2. FUNKCE KŮŽE**

Kůže díky své funkci ochranné bariéry má malou propustnost pro vodu a tedy i látek v ní rozpuštěných, takto se chrání před prostupem nežádoucích látek. Na ochranné funkci se také podílejí specializované buňky imunitního systému, které jsou uloženy v hlubších vrstvách. Patří sem Langerhansovy buňky, lymfocyty a makrofágy, ale to není jediná složka imunitních reakcí kůže. Vytvořit obrannou linii pomáhají saprofytické mikroorganismy a kyselé pH na povrchu kůže. Proti ultrafialovému záření chrání kůži melanin v keratinocytech. Mezi další funkce patří konverze prekursorů vitamínu D díky UV záření, vnímání doteku, tlaku, teploty a bolesti pomocí receptorů, přenos tepla, jež se uplatňuje v termoregulaci změnou prokrvení a tvorbou potu. Podkožní vrstvy tuku představují energetické zásoby a také se podílejí na termoizolačních vlastnostech kůže.

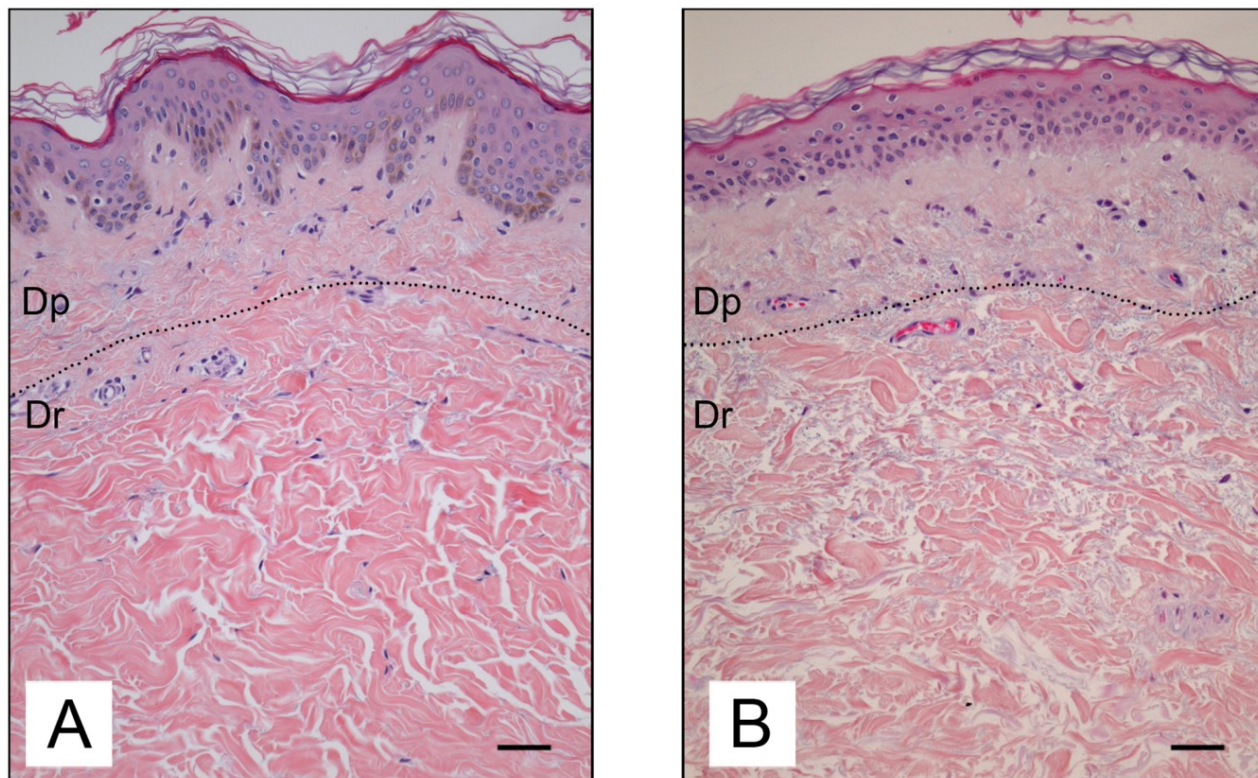
## **1.3. STÁRNUTÍ KŮŽE**

Každý organismus řadou fyziologických procesů spěje ke svému zániku. Tyto komplexní a kontinuální děje jsou označovány jako stárnutí. Obecně jsou charakterizovány změnami buněčnými ale i molekulárními, přičemž dochází ke ztrátě schopnosti udržet homeostázu a navyšuje se počet senescentních a apoptotických buněk. Jedním ze znaků stárnutí je vyčerpání či dysregulace populace kmenových buněk, což je velmi dobře pozorovatelné právě na kůži.

Kůže je vystavena mnoha vlivům vnějšího prostředí a též je ovlivňována přirozenými faktory, například hormony. (DiLoreto & Murphy, 2015; Taub & Pham, 2018) Stárnutí se projevuje už na buněčné úrovni a je velice důležitou obranou proti nesmrtnosti a neřízenému dělení buněk, která stojí za rozvojem nádorů. Senescence je buněčný děj, kdy dochází k zastavení buněčného cyklu buněk, a může být indukována přirozeně zkracováním telomer během každého buněčného dělení (replikativní senescence) nebo různými stresory, které mohou senescenci přímo indukovat či urychlit. Mezi tyto faktory patří oxidativní stres či poškození DNA, oba velmi blízce spojené i s působením UV záření. Buňka se takto (společně s apoptózou) chrání před



předáváním poškozené genetické informace do dalších generací buněk. (LLeonart & al., 2009) Zároveň však může být při zvýšeném počtu senescentních buněk narušena funkce a integrita orgánu.



**Obr. 3: Histologické řezy mladé a staré lidské kůže.** Snímky zobrazují histologický řez biopsií mléčné žlázy od 19 letého dárce (A) a 74 letého dárce (B). Mine & al., 2008 - převzato

S věkem se v lidské kůži hromadí stárnoucí keratinocyty a fibroblasty a mění se také zastoupení extracelulární matrix. (Campisi, 1998) Tyto změny jsou znatelné v podobě vnějších projevů, jako jsou snížená elasticita a ochablost kůže, vrásky či šedivění vlasů a mohou se projevit křehkostí a náchylností k onemocněním kůže. S věkem se mění i proces hojení ran a to ve všech jeho fázích, přičemž v porovnání s mladšími jedinci dochází ke zpožděné reepitelizaci tkáně. Na epidermis se stárnutí projevuje sníženou schopností sebeobnovy. Proliferace bazálních keratinocytů se snižuje a to vede ke ztenčení epidermis a zploštění papilárního spojení s dermis. Toto spojení se podílí na výživě epidermis a odolnosti proti střízným silám (Obr.3). Dále jsou ovlivněny termoregulační funkce potních žláz, extracelulární matrix a vaskularita dermis. V pozdějším věku tuková tkáň mění svou morfologii v důsledku změny metabolismu adipocytů. Společně se složkami kůže stárnou i buňky kožní imunity. (Rittié & Fisher, 2015)

### **1.3.1. ROZDÍLY MEZI FOTOSTÁRNUTÍM A CHRONOLOGICKÝM STÁRNUTÍM**

Změny struktury nutně souvisí s mírou vystavení kůže slunečnímu záření, protože výrazně urychluje proces stárnutí a tím ovlivňuje funkci a strukturu kůže. Dermis tvoří značnou část kůže a v průběhu stárnutí mění svou funkci. K těmto změnám dochází při fotostárnutí i chronologickém stárnutí kůže, ale pokaždé se projevuje jinak. (Braverman & Fonferko, 1982; Rittié & Fisher, 2015)

Při fotostárnutí dochází k jevu zvaném solární elastóza. Akumulace amorfního elastinu v dermis vede k nedostatečné odolnosti kůže. Aktinickou (syn. solární) stimulací fibroblastů je pravděpodobně způsobena elastotická degenerace, zatímco léze vzniklé s přibývajícím věkem jsou nejspíš spojené s aktivitou proteázy fibroblastového původu. Kůže vystavená slunečnímu záření podléhá změnám souvisejících s aktinickým poškozením i s přirozeným stárnutím. V případě chronologicky stárnoucí kůže chráněné před sluncem se první pozorovatelné abnormality objevují kolem třicátého roku života. (Braverman & Fonferko, 1982; Bouissou & al., 1988; Rittié & Fisher, 2015)

Také změny ve struktuře a množství kolagenu významně přispívají ke změnám struktury kůže. Syntéza kolagenu typu I a III se snižuje s přibývajícím věkem. Příčinou jsou stárnoucí fibroblasty a nižší úroveň mechanické stimulace. (Varani & al., 2006) Pro chronologické i aktinické stárnutí je charakteristická změna struktury a organizace kolagenu. Rovněž se vytváří mikroprostředí vhodné pro vznik a progres nádoru. (Rittié & Fisher, 2015)

S věkem se zpomaluje obnova kožních buněk a derivátů. Například produkce vlasů závisí na kmenových buňkách vlasového folikulu (HFSC), které stejně jako jiné buňky stárnou a tím se mění jejich schopnost sebeobnovy. (Keyes & al., 2013)

### **1.3.2. VNITŘNÍ FAKTORY**

K vnitřním faktorům ovlivňujících stárnutí kůže patří pigmentace kůže, která je spojena s etnickou příslušností. Rozdíly v kůži jsou na úrovni epidermis i dermis. Obecně běloši, kteří mají světlou kůži s menšími a agregovanými melanosomy s menším obsahem melaninu, mají horší opalovací schopnost. Podléhají tak dříve fotostárnutí. Epidermis bělochů má také rozdílnou vrstvu stratum corneum, která je tenčí a méně soudržná a roztažitelná. Na úrovni dermis není kůže tak silná ani

kompaktní jako u Asiatů nebo černochoů. Tloušťka jejich dermis se odvíjí od míry pigmentace. Mají větší jednotlivě rozptýlené melanosomy s větším množstvím melaninu. Tmavší typy pleti se rovněž vyznačují více vrstvami buněk a větším obsahem lipidů v kůži v porovnání se světlým typem kůže. Výrazná pigmentace tedy chrání kůži proti UV záření a ta nepodléhá tak snadno stárnutí, ale je naopak náchylnější na reorganizaci lipidů a vznik pigmentových skvrn. (Vashi & al., 2016)

Jistou ochranu před vlivem slunečního záření poskytuje i hormonální rovnováha a to především produkce estrogenu. Estrogen ovlivňuje jednak buňky kůže, konkrétně epidermální keratinocyty, dermální fibroblasty a melanocyty, a jednak urychluje hojení kůže a ovlivňuje její tloušťku, což může mít jistý protektivní účinek před fotostárnutím. Hladiny estrogenu se u žen mění v průběhu menstruačního cyklu a stejně tak tloušťka kůže. Nejslabší je právě na začátku, protože hladiny estrogenu a progesteronu jsou nízké. Podobně po menopauze, kdy dochází ke snížení produkce estrogenu a tím i zhoršení pleti začíná být kůže tenčí s větším počtem vrásek. (Stevenson & Thornton, 2007) Na kvalitu kůže má vliv i prokrvení. S věkem klesá hustota dermálních cév. (Kelly & al., 1995; Kenney, 2017) Na úrovni genů mohou se stárnutím souviset určité genové mutace. Gen pro Bcl-2, protoonkogen typický pro dlouho žijící buňky a mimo jiné exprimovaný kmenovými buňkami melanocytů, působí antiapoptoticky, avšak jeho delece způsobuje mnoho patologických jevů, mezi které patří i předčasné stárnutí a následná smrt. Patologické změny byly prokázány na myším modelu. U myši s delecí genu pro Bcl-2 dochází k indukci buněčné smrti folikulů a tím i šedivění chlupů a jejich pomalé obnově. Částečně se vliv této delece kompenzuje, pokud je zároveň odstraněn gen pro p53, který se účastní oprav DNA a má vliv na proliferaci buněk. (Nakayama & al., 1994; Li & al., 2015)

### **1.3.3. VNĚJŠÍ FAKTORY**

Fyziologické stárnutí se nemusí nutně shodovat s vnímaným věkem. Při důkladné péči o pleť a správné životosprávě může pleť vypadat o několik let mladší a naopak při nezdravém životním stylu dochází k předčasnému stárnutí. Významné faktory ovlivňující stárnutí kůže: péče o pleť, znečištění, strava, stres, kouření a vystavení slunečnímu záření.

Každodenní péče o pleť je klíčová v ochraně pleti proti slunečnímu záření a pomáhá udržet integritu a hydrataci pokožky, což zpomaluje proces stárnutí zapříčiněný



vnějšími vlivy. (Apraj & Pandita, 2016) Regeneraci a ochranu před těmito vlivy rovněž poskytuje kvalitní spánek podporující kromě jiného znovuoobnovení kožní bariéry po vystavení ultrafialovému záření. (*Sleep deprivation*, 2013) Negativně se pak na kvalitě kůže podílí stres, který vede k imunitním dysfunkcím, oxidačnímu stresu, kumulativním poškozením DNA a změnám v extracelulární matrix spojené s dlouhodobě zvýšenou hladinou kortizolu. Ubývá kolagenu a je potlačena aktivita hyaluronan syntázy (Oikarinen, 1977; Hara & al., 2011; Wang & al., 2012). K dalším změnám kolagenních a elastinových vláken, jejich zesílení, dochází vlivem konečných produktů pokročilé glykace (AGEs). Tyto látky mohou být přímo obsaženy v potravinách, nebo jsou vytvořeny z přijímaných cukrů. (Danby, 2010). Významně stárnutí ovlivňuje expozice UV záření a to především z dlouhodobého hlediska, také podporuje vznik nádorů kůže. Na předčasném stárnutí se podílí UVA a UVB složka ultrafialového záření. Dále se na něm podílí infračervené záření. Pronikání těchto vlnových délek má za následek v akutním případě popálení a při chronické expozici dochází k poškození DNA, poškození mitochondrií a oxidaci proteinů Tyto změny narušují strukturu pleti za vzniku vrásek, pih a dyschromie. (Bender & al., 1997; Vierkötter & al., 2010) Vznik vrásek a pigmentových skvrn podporuje i kouření tabákových výrobků. Kouření negativně ovlivňuje jak epidermis tak, prostřednictvím krevního oběhu, dermis. Způsobuje zúžení cév a tím dochází k nedostatečné výživě tkáně. (Daniell, 1971; Tur & al., 1992)

#### **1.4. HOJENÍ RAN**

Hojení je biologický proces zahrnující čtyři fáze, které musí proběhnout ve správném pořadí pro úspěšné zahojení. Hojením ran se nejčastěji uvažuje právě hojení ran na kůži, ale základní parametry hojení platí pro reparaci jakékoliv tkáně v lidském organismu. V případě odchylky či narušení tohoto procesu dochází ke zpoždění hojení nebo v případě trvalých komplikací k chronické ráně. Negativně mohou hojení ovlivnit nezdravé návyky, diabetes, obezita, léky, stres nebo infekce.

Optimální hojení začíná rychlou hemostázou s následným zánětem. Při hemostázi se uvolňují do rány prozánětlivé cytokiny, růstové faktory z destiček, transformující růstový faktor, fibroblastický a epidermální růstový faktor. Do místa poškození pronikají také buňky imunitního systému, neutrofily, makrofágy a lymfocyty. Po vyčištění místa od apoptotických buněk a utišení zánětu začínají diferenciovat, proliferovat a migrovat mesenchymální buňky do místa rány. Následnou angiogenezi,

reepitelizací a syntézou kolagenu se obnovuje struktura kůže. Právě ve fázi reepitelizace hrají významnou roli kmenové buňky. Epidermální kmenové buňky diferencují v keratinocyty, buňky odvozené z kostní dřeně tedy hematopoetické kmenové buňky a mesenchymální kmenové buňky diferencují v adipocyty, fibroblasty a keratinocyty. (Guo & DiPietro, 2010) Imunitní systém se nepodílí pouze na ochraně kůže, ale má svůj význam právě při stimulaci epidermálních kmenových buněk k proliferaci. Epidermální  $\gamma\delta$ T-lymfocyty přes své receptory rozpoznávají poškozené a stresované keratinocyty. Po jejich rozpoznání začnou T-buňky produkovat chemokiny a růstové faktory keratinocytů, čímž stimulují keratinocyty k proliferaci a reepitelizaci tkáně.

T-lymfocyty se nacházejí intraepidermálně společně s Langerhansovými buňkami a v okolí vlasového folikulu, přičemž v souvislosti s růstovým cyklem vlasů dochází k remodelaci imunitního systému kůže. (Paus & al., 1998; Jameson & al., 2002)

#### **1.4.1. HOJENÍ AKUTNÍ RÁNY**

Vzhledem k ochranné funkci je nezbytné poškozenou kůži obnovit v procesu hojení za vzniku jizvy. Při poranění zasahujícím do dermis dochází k poškození krevních cév a krvácení. Trombocyty pomáhají zastavit krvácení a usnadňují aktivaci zánětlivé fáze. Krevní destičky společně s leukocyty sekretují prozánětlivé cytokiny. Již po pár minutách do rány migrují neutrofily, které chrání zranitelné místo posílením zánětlivé reakce. Těsně po neutrofilech do místa migrují makrofágy fagocytující buněčné zbytky a patogeny. Makrofágy navíc podporují migraci keratinocytů a syntézy extracelulární matrix fibroblasty. Rána získává pevnost díky většímu množství kolagenu a zároveň je zmenšena kontrakcemi hladkého svalstva, takže je snadněji uzavřena proliferací buněk. Konečnou fází je remodelace vzniklé jizvy, která může trvat i několik let, přičemž se rána reepitelizuje a dermis získává zpět svou pevnost, ale už není nikdy tak pružná jako normální kůže a je náchylná k opětovnému otevření. Komplikací hojení může být destrukce vlasových folikulů, které jsou zdrojem kmenových buněk pro keratinocyty, stejně jako buňky bazální laminy na rozhraní epidermis a dermis. Tento případ je typický pro popáleniny druhého a třetího stupně a reepitelizace probíhá velmi pomalu, takže vyžaduje lékařský zákrok v podobě kožních štěpů. (Chen & al., 2009; Li & al., 2017)

### **1.4.2. CHRONICKÉ RÁNY A HOJENÍ**

Chronické a nehojící se rány vznikají při patologických stavech jako je diabetes nebo jsou těžké popáleniny. Přirozené procesy hojení nedokáží obnovit funkci poškozené kůže a vznikají trvale zánětlivé rány neschopné úspěšně přejít do reparativní fáze. Rána je náchylná k opakovaným infekcím a vzniku vředu. S léčbou chronických ran jsou spojeny komplikace znesnadňující hojení rány. K léčbě se dají využít kožní štěpy, ale mohou se zde uplatnit i mesenchymální kmenové buňky (MSC). Během přirozeného hojení hrají roli ve třech hlavních fázích – zánětu, proliferaci a remodelaci. Schopnost MSC přeměny na různé buněčné linie a pleotropní účinky na zánětlivé mechanismy (regulace zánětu, antimikrobiální aktivita a podpora migrace buněk během remodelace epitelu) je představuje jako zajímavý buněčný typ využitelný pro různé buněčné terapie. Léčba pomocí MSC však nese jistá omezení. Nepříznivé prostředí chronické rány s nadměrným zánětem negativně ovlivňuje přežití MSC a tím i jejich působení v ráně. Další překážkou použití MSC pro terapeutické účely může být obtížná standardizace pro účel výroby kvůli heterogenitě mezi dárci a to v míře buněčné proliferace a diferenciaci. (Nuschke, 2014; Gould & al., 2015)

## **2. KMENOVÉ BUŇKY**

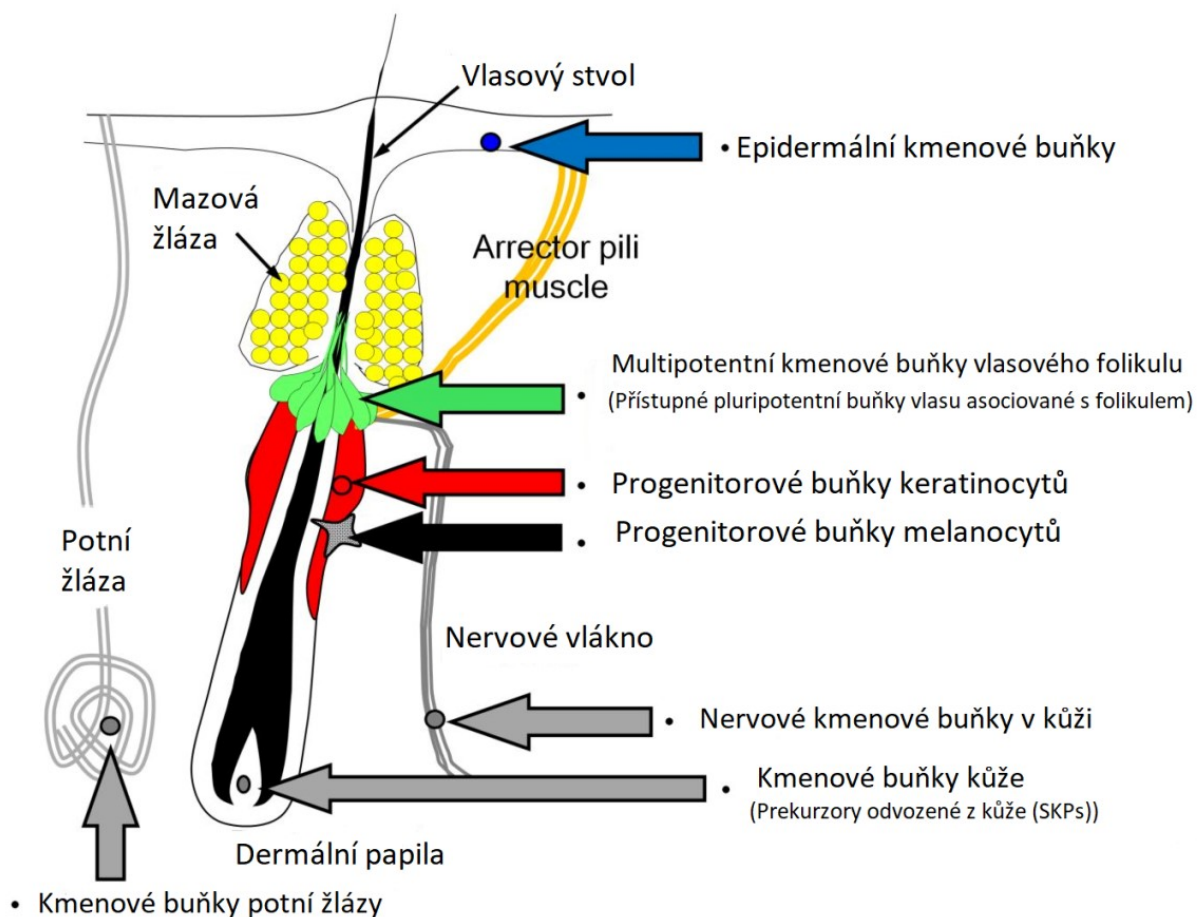
### **2.1. DEFINICE A VLASTNOSTI KMENOVÝCH BUNĚK**

Kmenové buňky jsou zvláštním typem buněk, které nejsou diferenciované, dokáží se přeměnit na různé typy buněk organismu a zároveň mají schopnost sebeobnovy. Jejich množství zůstává při běžné homeostáze konstantní, díky asymetrickému dělení. Při něm z jedné kmenové buňky vznikají dvě rozdílné dceřiné buňky, jedna kmenová buňka a druhá, která diferencuje. Tím, že se buňka vzdálí od niche ztrácí kontakt s faktory podporující kmenovost a dochází u ní k terminální diferenciaci. Mohou se ale dělit i symetricky. V tomto případě vznikají dvě kmenové buňky, nebo dvě terminálně diferenciované. (Blanpain & Fuchs, 2009) Při asymetrickém dělení se ukládají toxické inkluze z poškozených proteinů do buňky určené pro terminální diferenciaci. (Huang & al., 2009) Přesto s každým dělením narůstá riziko vzniku rakoviny díky zvyšující se pravděpodobností onkogenní transformace. (Tomasetti & Vogelstein, 2015) Kmenové buňky proto tráví většinu svého života v klidovém stavu, kdy jsou chráněny před replikačním poškozením, ale zase jsou náchylnější ke vzniku mutací při poškození

DNA např. UV zářením. Hromadění poškozené DNA je hlavním faktorem vedoucím ke stárnutí kmenových buněk a také může být příčinou jejich apoptózy či diferenciace, což má za následek snížení jejich počtu. Stárnutí buněk je také způsobeno akumulací toxických produktů vzniklých metabolickými procesy. Tvorba reaktivních forem kyslíku (ROS) hraje ve stárnutí buněk též významnou roli, proto se snaží produkci ROS omezit. Nacházejí se v hypoxickém prostředí a při tvorbě energie využívají glykolýzu. (Schultz & Sinclair, 2016). Dalším znakem stárnutí jsou zkrácené telomery, přestože kmenové buňky jsou schopné exprimovat telomerázu, s věkem se jejich telomery zkracují. (Ferrón & al., 2009) Během stárnutí ztrácí buňky polaritu a přichází o schopnost asymetrického dělení. Ztráta polarity je většinou podmíněna vnějšími buněčnými faktory jako jsou stárnoucí niche, dysfunkční adhezní molekuly, signalizace růstových faktorů nebo zánět. Stárnoucí kmenové buňky obecně ztrácí vlivem buněčných změn svůj migrační a naváděcí potenciál, navíc se ukazuje, že jsou stejně smrtelné jako buňky diferenciované a mají omezený počet replikativních dělení. (Krishnamurthy & Sharpless, 2007; Ruzankina & Brown, 2007; Khorraminejad-Shirazi & al., 2019)

Již zmíněný nediferenciovaný stav tyto buňky předurčuje k přeměně na různé typy buněk organismu. Tento fascinující jev ovšem neprobíhá tak snadno, jak by se mohlo na první pohled zdát. Ne všechny buňky jsou schopné vytvořit jakýkoliv typ buňky či tkáň organismu. Podle jejich diferenciačního potenciálu se dají rozdělit na buňky totipotentní, pluripotentní, multipotentní a unipotentní. Totipotentní buňky (mezi něž patří oplozené vajíčko a buňky vzniklé během jeho prvních dělení) jsou schopné vytvořit celý nový organismus i extraembryonální struktury. Menší diferenciační potenciál mají buňky pluripotentní, neschopné vytvářet například placentu. Pluripotence se totiž vyznačuje diferenciací pouze do třech zárodečných listů (ektodermu, endodermu a mezodermu). Multipotentní kmenové buňky (tkáňové) jsou schopné vytvářet mnoho různých typů buněk, ale pouze v rámci dané tkáně či orgánu. Zachovanou sebeobnovu mají i buňky unipotentní (tzv. progenitory), avšak dokáží se přeměnit pouze v jeden typ buněk. Podle jiného typu dělení lze kmenové buňky rozlišovat na embryonální a adultní. Embryonální kmenové buňky jsou takové, které lze z embrya získat dříve, než dojde k jeho implantaci v děloze. Zatímco tkáňově specifické buňky se nacházejí v již diferenciovaných tkáních a dále se dělí na buňky mesenchymální (MSC), hematopoetické kmenové buňky a kmenové buňky pupečnickové krve. (Čedíková & al., 2012) MSC jsou tedy nehematopoetické buňky vyskytující se v mnoha tkáních, včetně

kostní dřeně. Z dospělé kostní dřeně kmenové buňky dál diferencují v adipocyty, chondrocyty a osteocyty. (Tan & al., 2014) Speciálními typy kmenových buněk jsou pak nádorové kmenové buňky (CSC) a indukované pluripotentní kmenové buňky (iPSC). (Čedíková & al., 2012) Poslední typ buněk není pro organismus typický, byl uměle vytvořen in vitro za pomoci čtyř transkripčních faktorů specifických pro kmenové buňky (Oct- 3/4 ,Sox2, c-Myc a KLF4) (Chen & al., 2009)



Obr. 4: Lokalizace různých typů kmenových buněk v kůži. Amoh & Hoffman, 2017 - upraveno

V těle se kmenové buňky nacházejí uložené v místech zvané niche (nika). Zde buňky zůstávají do chvíle, než se začnou dělit a dál diferenciovat. Niche pomáhá kmenové buňce zachovat si své jedinečné vlastnosti, proto při její destrukci kmenová buňka ztrácí schopnost sebeobnovy a diferencuje v některou z buněk organismu. Kůže obsahuje hned několik různých nik (Obr.4) a typů kmenových buněk. (Tab. 1)

(Zakrzewski & al., 2019) Epidermis je regenerována epidermálními kmenovými buňkami. Dermis a hypodermis jsou mesenchymálního původu. Dříve zmíněné mesenchymální kmenové buňky jsou významné pro správnou funkci a opravu kůže.

#### **Znamé typy kožních kmenových buněk:**

- epidermální kmenové buňky
- kmenové buňky melanocytů
- kmenové buňky vlasového folikulu
- kmenové buňky potní žlázy
- hematopoetické kmenové buňky
- mesenchymální kmenové buňky
- nervové kmenové buňky

#### **2.1.1. NICHE**

Specifické mikroprostředí tzv. niche uchovává kmenové buňky v jejich nediferenciovaném stavu a reguluje jejich obnovu. Charakter niche ovlivňuje jednak tkáňové mikroprostředí jako složení extracelulární matrix a jednak kmenové buňky, proto je každá niche specifická pro daný typ kmenových buněk. Přestože přesné složení niche jednotlivých typů kmenových buněk zůstává nerozluštěno, i v případě kožních kmenových buněk máme několik konkrétních informací o proteinech regulujících jejich chování. Například pro diferenciaci interfolikulárních epidermálních buněk (IFE-SC) přisedlých na bazální laminu je nezbytný laminin-322. Ten je v bazální lamině ukotven přes integrinem vázanou kinázu. (Morgner & al., 2015; Yamada & al., 2018) Klíčovými regulátory mikroprostředí jsou tedy kinázy vázající integrin. Hypoxické prostředí má zase zřejmě zabránit neodůvodněné iniciaci diferenciace. Kmenové buňky (SC) a progenitorové buňky jsou kotveny v niche pomocí adhezivních molekul zároveň díky nim přijímají signály k regulaci sebeobnovy a diferenciace. Signály působí na malou vzdálenost a dceřiné buňky, které vycestují z niche k nim ztrácí přístup a přichází o svou kmenovost. Mezi významné signální dráhy uplatňující se v regulaci kmenových buněk kůže patří dráhy Wnt a TGF- $\beta$  pro aktivaci a diferenciaci SC. Koordinace Wnt a Noggin hraje roli v zahájení nového cyklu růstu vlasu. Noggin zde působí jako

antagonista pro dráhu BMP, který udržuje klidový stav kmenových buněk. (Li & Xie, 2005; Morgner & al., 2015)

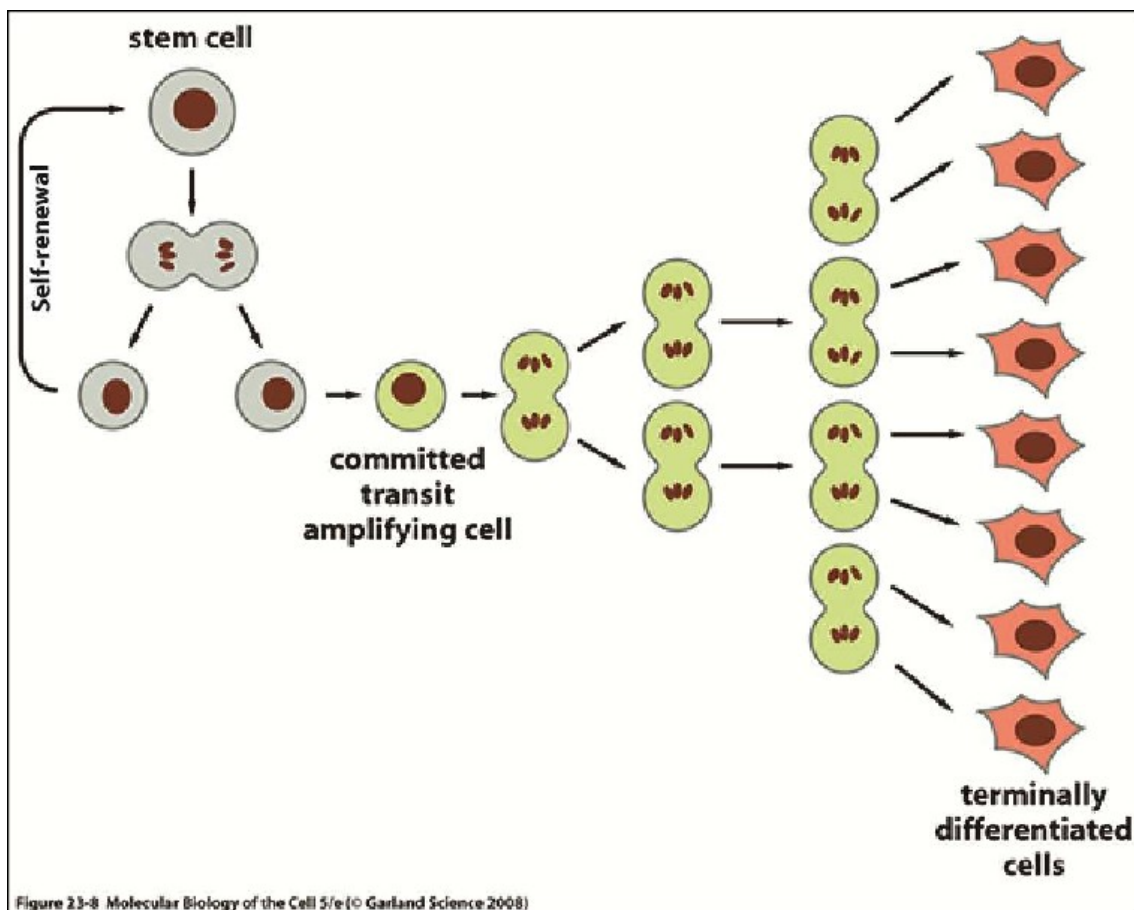
## **2.2. KOŽNÍ KMENOVÉ BUŇKY**

### **2.2.1. KMENOVÉ BUŇKY EPIDERMIS**

Epidermis se skládá z vícevrstevného epitelu, interfolikulární epidermis (IFE), vlasových folikulů (HF), mazových a vylučovacích potních žláz. Jednotlivé složky kůže vznikají a doplňují se z různých subpopulací kmenových buněk uložených v bazální vrstvě epidermis a ve vlasovém folikulu. Buňky jsou regulovány vnitřními a vnějšími faktory, přičemž některé z nich se mohou podílet na sebeobnově, reparaci, stárnutí, ale také vzniku nádorů kůže. (Ressler & al., 2006; Giangreco & al., 2008; Kretzschmar & Watt, 2014)

#### **Interfolikulární epidermální kmenové buňky**

Stratifikovaný epitel kůže vzniká diferenciací interfolikulárních epidermálních kmenových buněk (IFE-SCs) v keratinocyty, které se dále přeměňují v průběhu migrace vzhůru na mrtvé buňky vrstvy stratum corneum. K bazální membráně přisedá jednobuněčná vrstva progenitorových též unipotentních kmenových buněk s rozdílným proliferativním potenciálem. Tyto buňky disponují nejvyšším proliferativním potenciálem. Když se dělí, vytváří díky asymetrickému dělení opět jednu kmenovou buňku a druhou buňku s omezenou proliferační schopností tzv. TAC (transit amplifying cell). TAC jsou mezistupněm k terminálně diferenciovaným buňkám. Před svou terminální diferenciací se ještě několikrát pomnoží, ale už ne tolikrát jako buňka kmenová. (Obr. 5).

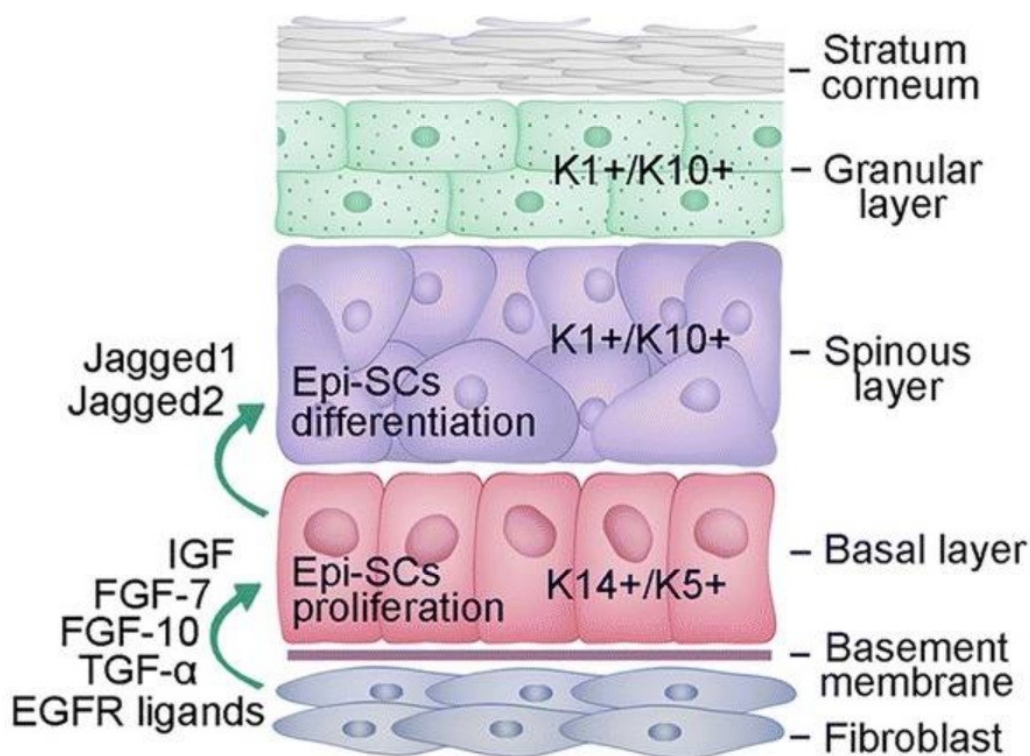


Obr. 5:

Asymetrické dělení kmenové buňky dává vznik dceřiné kmenové buňce a přechodně dělící se buňce (TAC).  
(Alberts & al.2008 cit. podle Tarig Osman, 2014)-převzato

Epidermální stratifikace (Obr. 6) je děj řízený mnoha různými faktory. Buňky interfolikulární epidermis jsou regulovány růstovými faktory z dermálních fibroblastů. Mezi sekretované faktory podporující sebeobnovu epidermálních kmenových buněk (EpSC), patří IGF, FGF-7, FGF-10 a zejména EGF. EGF podporuje nediferenciovaný stav a navyšuje počet generací, čímž zpomaluje stárnutí buněk. IFE-SCs se nejprve oddělují od bazální membrány a poté se asymetricky dělí. Mitotické vřetenko se nachází kolmo k bazální membráně. Po rozdělení migrují směrem nahoru a terminálně diferencují. Diferenciace bazálních buněk na spinální buňky je řízena Notch dráhou pomocí faktorů Jagged 1 a Jagged 2. (Rheinwald & Green, 1977; Lechler & Fuchs, 2005; Wang, 2019)

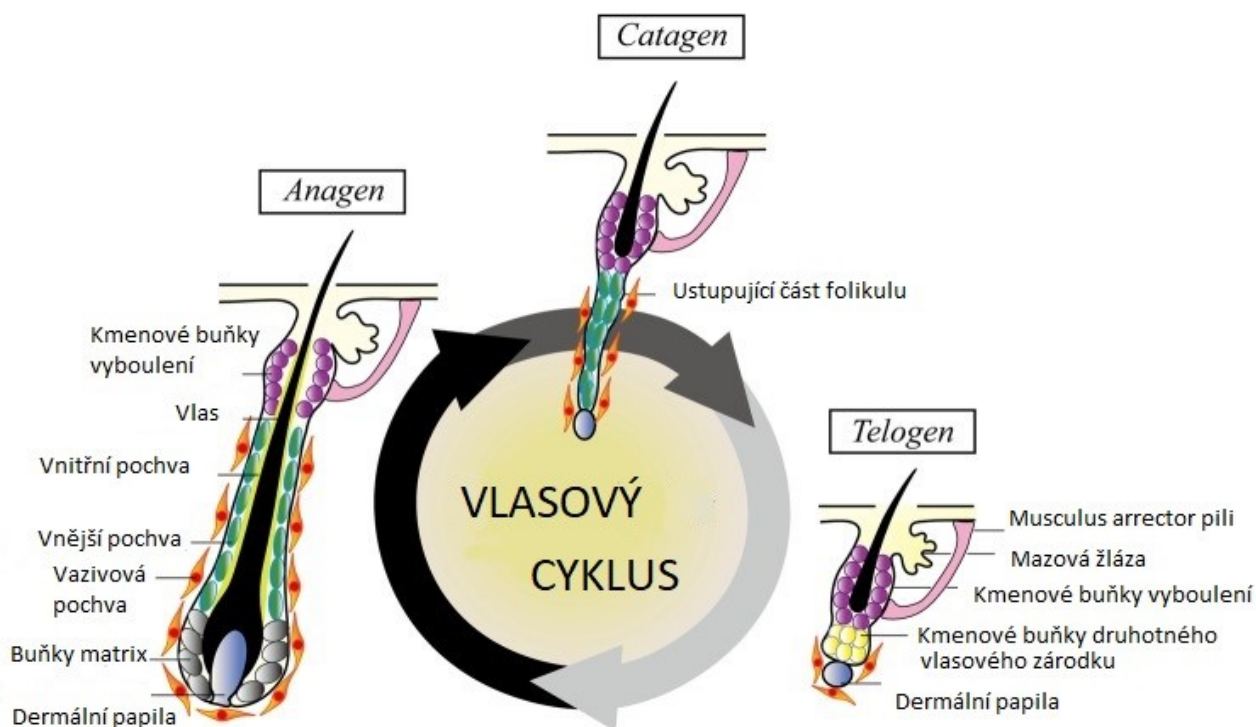




**Obr. 6: Faktory uplatňující se ve stratifikaci epidermis.** Epidermis je vrstevnatá struktura, která se skládá z vrstvy bazálních buněk a spodní bazální membrány, spinální vrstvy, granulární vrstvy a vrstvy stratum corneum. Samo obnovující se a proliferující epidermální kmenové buňky jsou umístěny uvnitř bazální vrstvy. Sekretované faktory dermálních fibroblastů podporují samovolnou obnovu buněk v bazální vrstvě. Tyto faktory zahrnují IGF, FGF-7, FGF-10, EGF ligandy a TGF-α. Epidermální kmenové buňky vytvářejí sloupcovité jednotky, které podléhají terminální diferenciaci pomocí ligandu Jagged, který aktivuje Notch signalizaci. Wang, 2019 – převzato

### Kmenové buňky vlasových folikulů

Obnova a růst vlasu jsou spojené s proliferací a diferenciací kmenových buněk vlasového folikulu (HFSC). HFSC cyklicky přechází z fáze klidu do fáze aktivity. Intervaly mezi nimi se prodlužují společně s věkem. Kmenové buňky ztrácí schopnost zahájit nový vlasový cyklus, takže převažuje klidová fáze a to je důvodem řednutí vlasů. (Keyes & al., 2013) V růstovém cyklu vlasu se střídají tři fáze: anagen, katagen a telogen. (Obr.7)

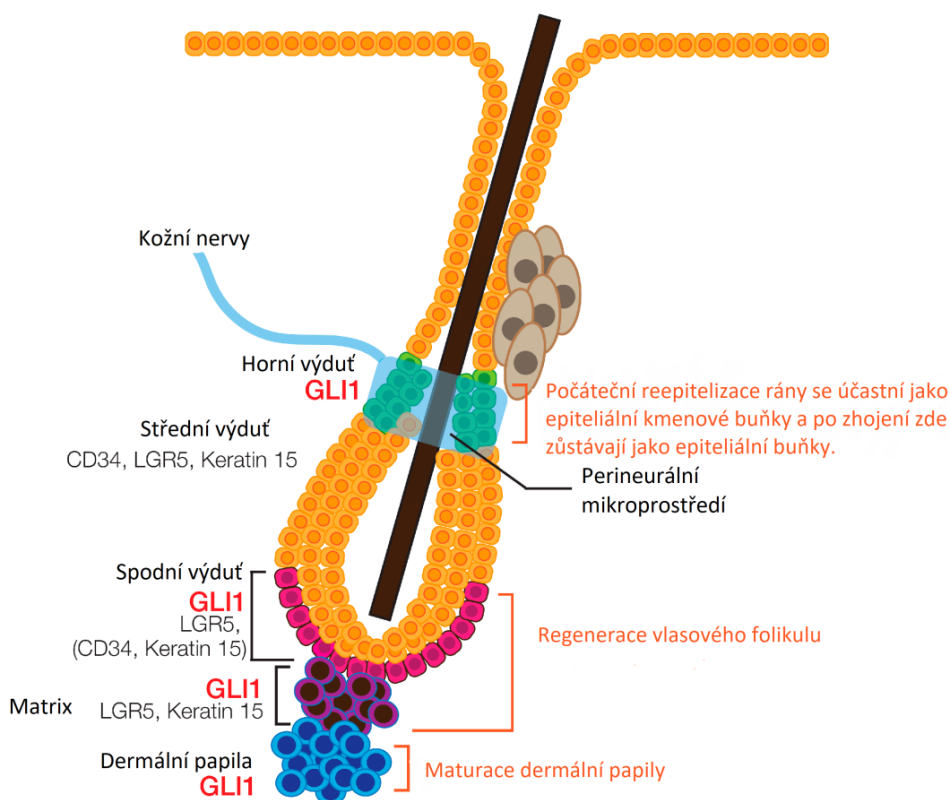


**Obr. 7: Růstový cyklus vlasu.** Schéma zobrazuje strukturu vlasového folikulu, rozmístění kmenových buněk vlasového folikulu (HFSC) a růstový cyklus vlasu. HFSC v klidovém stavu jsou umístěny ve výduti vlasového folikulu, zatímco aktivované HFSC jsou umístěny v druhotném vlasovém zárodku. Aktivovány jsou přechodně během časného anagenu a jejich potomstvo vytváří spodní část vlasového folikulu HF. Vlasový folikul prochází během růstového cyklu třemi fázemi: katagen (regresní fáze), telogen (klidová fáze) a anagen (růstová fáze). Buňky matrix vlasové cibulky aktivně proliferují a diferencují, aby podpořily růst vlasu v růstové fázi. V katagenu se vlasová cibulka zmenšuje a spodní část vlasového folikulu ustupuje, až zanikne a v telogenu zůstává pouze dermální papila. HFSC jsou v druhotném vlasovém zárodku a výduti, ale v této fázi zůstávají inaktivovány (Chen & al., 2020) - upraveno

Uvnitř vlasového folikulu se nachází heterogenní skupina buněk. (Cheng & al., 2018) V horním segmentu sídlí multipotentní kmenové buňky vlasového folikulu (HFSC), které regenerují vlasový folikul. Podmnožina těchto buněk ve fázi katagenu opouští mikroprostředí. (Li & al., 2019) Po opuštění niche dceřiné buňky zpravidla migrují směrem dolů a vytváří progenitory pro obnovu vlasu, ale mohou migrovat i nahoru a doplňovat tak řady interfolikulárních epidermálních kmenových buněk (IFESC) v případě poškození epidermis. (Li & Xie, 2005) Ve výduti (z angl. bulge) se nachází progenitorové buňky keratinocytů a melanocytů. (Amoh & Hoffman, 2017) Podle exprimovaných faktorů lze kmenové buňky rozdělit do několika subpopulací. Transkripční faktor  $Gli1^+$  reguluje proliferaci a diferenciaci kmenových buněk, nachází se u většiny HFSC, avšak role subpopulací jsou rozdílné (Obr. 8). (Merchant & al., 2010) Pro obnovu kůže při poranění se využívají buňky nad výduti vlasového folikulu s charakteristickými markery  $LRIG1^+$ ,  $Gli1^+$  a  $Lgr^+$ . Za růst vlasů jsou primárně zodpovědné  $Krt15$ ,  $CD34$  a  $Lgr5$  buňky. Ve vlasových zárodcích jsou buňky

exprimující jednak Cdh3 a jednak produkují faktor Runx1, který formuje niche ve fázi pozdního katagenu. (Cheng & al., 2018; Li & al., 2019) Ve vlasovém folikulu se také nacházejí epiteliální progenitorové buňky dermální papily (Morgan, 2014) a kmenové buňky melanocytů (Joshi & al., 2019).

Kmenové buňky melanocytů (McSCs) během každého cyklu vlasového folikulu generují velké množství diferenciovaných melanocytů. Melanocyty vzniklé v anagenní fázi z McSC podléhají v katagenu apoptóze, avšak McSC zůstávají a ve fázi telogenu jsou v klidovém stavu. Sídlí hned v několika oblastech vlasového folikulu. CD34<sup>+</sup> část výdutě vlasového folikulu, jeho permanentní dolní část uchovávají funkčně jinou skupinu McSC oproti populaci sekundárního CD34<sup>-</sup> zárodku vlasového folikulu. Zatímco CD34<sup>-</sup> McSC vykazují pokročilý stav diferenciaci melanocytů a efektivně regenerují pigmentaci, skupinka CD34<sup>+</sup> McSC exprimuje markery buněk odvozených od neurální lišty a dokonce má schopnost myelinizovat neurony. Zřejmě má CD34<sup>+</sup> subpopulace podporovat regeneraci extrafolikulárních částí v okolí folikulu. (Joshi & al., 2019)



**Obr. 8: Gli1- exprimující kmenové buňky vlasového folikulu a jejich role.** Exprese Gli1 a dalších markerů definuje molekulárně odlišné zóny vlasového folikulu ve fázi telogenu, včetně rozčlenění vyboulení do horní, střední a dolní výdutě. Gli1-exprimující buňky v horní bouli přijímají hedgehog signál z vlasových folikulů a funkčně se odlišují od buněk zbytku vlasového folikulu v jejich schopnosti stát se epidermálními kmenovými buňkami během opravy rány. Role každé populace kmenových buněk výdutě Gli1+ jsou popsány v oranžovém textu vpravo. (Abe & Tanaka, 2017) – upraveno.

Vlasový folikul obsahuje HFSC v klidovém stavu ve vyboulené stabilní části. Druhá dynamická část prochází periodickou proměnou v rámci růstového cyklu vlasu. Během počáteční fáze růstu, anagenu, část HFSC opouští niche a tvoří vlasový zárodek. Po anagenní fázi, podstupuje folikul přechod do fáze katagenní. V této klidové fázi vzniká redukci spodní části vlasového folikulu tenké epitelové vlákno obklopené bazální membránou. Dermální papila se přitáhne ke zbylé permanentní části s kmenovými buňkami výdutě vlasového folikulu (HFSC) a nastává fáze telogenu. Vlas není pevně uchycen a snadno vypadává. Regulátory růstového cyklu jsou jednak signalizační dráhy BMP, Wnt, TGF- $\beta$ 2 a jednak transkripční faktory p63, c-Myc a další. (Dai & Segre, 2004; Li & Xie, 2005; Greco & al., 2009; Morgner & al., 2015) Exprese p63 je nutná pro zahájení stratifikace epidermis a hraje tedy zásadní roli v iniciaci stratifikace během vývoje a poté v udržení proliferativního potenciálu bazálních keratinocytů dospělé epidermis. (Koster & al., 2004) Exprese c-Myc probíhá pouze u proliferativních bazálních buněk a reguluje buněčný cyklus, přičemž jeho selektivní působení na jednu z dceřiných buněk vede k iniciaci terminální diferenciaci. (Dai & Segre, 2004)

### **2.2.2. DERMÁLNÍ KMENOVÉ BUŇKY**

V dermis je několik různých populací kmenových buněk. Multipotentní kmenové buňky odvozené od potní žlázy (SGSC) se nachází ve stroma potní žlázy a exprese markerů bazálních buněk se podobají epidermálním kmenovým buňkám (EpSC). Mezi tyto faktory patří Nestin,  $\alpha$ 6, p63, Oct4 a Sox2. Nestin je zodpovědný za proliferaci, migraci a multipotenci buněk. Buňky exprimující Nestin se nachází také ve vlasových folikulech a mazových žlázách. Mohou diferenciovat na neurony, gliové buňky či keratinocyty. Faktory Oct4 a Sox2 jsou specifické pro multipotenci a plasticitu buněk. SGSC na rozdíl od EpSC neexprimují proteiny buněk stratifikované epidermis. (Nagel & al., 2013)

Ve vlasovém folikulu jsou součástí dermální papily odvozené buňky kůže (SKPs, skin-derived precursors). Mají charakter multipotentních kmenových buněk neurálního hřebene a diferencují ve Schwannovy buňky a buňky mezenchymální tedy adipocyty a dermální fibroblasty. Jejich původ ale není jednotný. SKPs z kůže obličeje pochází z neurálního hřebenu, avšak kůže zad obsahuje SKPs somatického původu. Buňky DP se podílí na regeneraci nervů kůže (Inagaki & al., 2017). Zároveň z dermální papily vychází signály pro regulaci kmenových buněk výdutě vlasového folikulu. Regulují

vývoj a růst vlasových folikulů aktivací signální dráhy Wnt/ $\beta$ -katteninové dráhy, která iniciuje fázi anagenu. (Driskell & al., 2011; Morgan, 2014)

Stejně jako kmenové buňky potních žláz, tak i nervové kmenové buňky (NSC) exprimují povrchové markery Nestin a Sox2. Sonic hedgehog (Shh) signalizace udržuje a reguluje populaci NSC a TAC (transit amplifying cells), přičemž se nepřímo podílí na migraci neuronů (Balordi & Fishell, 2007; Syu & al., 2019). Nestin produkující kmenové buňky vlasového folikulu mohou diferenciovat v glie i neurony. Jejich diferenciační potenciál se liší s umístěním, v horní části je největší množství Nestin<sup>+</sup> buněk. NSC mohou také vznikat z kmenových buněk odvozených z tukové tkáně (ADSC, adipose-derived stem cell). (Amoh & al., 2012)

### **2.2.3. HYPODERMÁLNÍ KMENOVÉ BUŇKY**

V tukové buňky, adipocyty, diferencují kmenové buňky tukové tkáně (ADSC). Mají podobný diferenciační potenciál a expresi markerů jako kmenové buňky kostní dřeně. Mimo své přirozené prostředí se ADSC přeměňují na osteoblasty a chondrocyty. Lokalizovat umístění mikroprostředí ADSC znesnadňuje fakt, že obsahují spoustu pro ně nespecifických markerů. Mezi tyto markery se řadí CD31, CD34,  $\alpha$ -SMA, SSEA1 a STRO-1 typické pro buňky vaskulárního hladkého svalstva a endotelu, v které mohou ADSC také diferenciovat. ADSC také vylučují silné angiogenní faktory. Dále exprimují typické markery kmenových buněk OCT4 a telomerázu a Wnt5a pro niche. Díky těmto zjištěním se zdá být pravděpodobným mikroprostředím ADSC perivaskulární prostor v mikrovaskulární síti. Ta hraje ve vývoji a expanzi tukové tkáně důležitou roli a navíc má význam při udržení adipogeneze. ADSC tedy úzce souvisí s krevními cévami. (Lin & al., 2008)

### **2.2.4. KMENOVÉ BUŇKY A KARCINOGENEZE KŮŽE**

Kmenové buňky se podílí na rozvoji rakoviny kůže, která patří mezi její nejčastější onemocnění. Vznik karcinomu indukuje z velké části UV záření, které poškozuje DNA kmenových buněk. K rozvoji rakoviny dál mohou přispět akutní a chronické rány. Karcinomy se dají rozdělit na tři typy, kde nejčastějším typem je karcinom bazálních keratinocytů neboli bazaliom a současně závisí na dysregulaci Hedgehog/Gli signalizace. Původem bazaliomu jsou nejspíš epiteliální kmenové buňky a buňky progenitorové s omezenou regenerační kapacitou. Dalším typem jsou skvamózní

nádory. Zde není jasné z jakých buněk vznikají, ale pravděpodobně by to mohly být progenitorové folikulární buňky a kmenové buňky vlasového folikulu. Kmenové buňky melanocytů dávají vznik melanomu, agresivnímu a smrtelnému typu rakoviny kůže, který dokonce zasahuje i do imunitního systému. (Kasper & al., 2011; Wang & al., 2011; White & al., 2011; Lang & al., 2013)

**Tab. 1 : Buněčné typy kožních kmenových buněk**

Buněčný typ	Zkratka	Lokalizace	Specifické markry
Epidermální kmenové buňky	EpSCs	Bazální vrstva epidermis	b1 <sup>high</sup> /melanom chondroitin sulfat proteoglykan pozitivní, α6 <sup>high</sup> /CD71 <sup>dim</sup> , p63
Kmenové buňky melanocytů	McSCs	Oblast výdutě folikulu a vlasový zárodek	Dct, Pax3, Sox
Kmenové buňky vlasového folikulu	HFSC	Oblast výdutě folikulu	CD34, CD200, K15, K19, Lgr5, Lhx2, NFATC1, NFIB, PHLDA1, Sox9
Hematopoetické kmenové buňky	HSC	Dermální papila folikulu	CD34 lymfoidních a hematopoetických progenitorů
Kmenové buňky a potní žlázy	SGSC	Potní žlázy a infundibulum	Blimp1
Mezenchymální kmenové buňky	MSC	Dermis	CD70+, CD90+, CD105+, CD34-
Tukové kmenové buňky	ADSC	Perivaskulární prostor v mikrovaskulární síti	CD34, OCT4, telomeráza, Wnt5a
Neurální progenitory	NSC	Dermální papila folikulu	S100 gliových buněk a periferní nervové tkáň, HMB45

(Lin & al., 2008; Shpichka & al., 2019) - upraveno

### 3. CIRKADIÁNNÍ RYTMY KŮŽE A PŘÍČINY STÁRNUTÍ KOŽNÍCH KMENOVÝCH BUNĚK

#### 3.1. CIRKADIÁNNÍ RYTMY KŮŽE

Fyziologie organismu se mění v závislosti na denní době. Cirkadiánní rytmy řízené suprachiasmatickým jádrem hypotalamu (SCN) jsou ve skutečnosti zpětnovazebné smyčky autoregované genové exprese s rytmickými oscilacemi transkripčních faktorů.

Díky fyziologickým změnám se tělo přizpůsobí na rozdílné prostředí dne a noci. Během dne je kůže vystavována většímu počtu nepříznivých vlivů a musí tak odolávat ztrátě vody, vystavení extrémním teplotám, UV záření, toxinům a patogenům, navíc se zvyšuje riziko fyzického zranění. (Plikus & al., 2015) Hlavní biologické hodiny řídí celý organismus, ovšem tkáně mají ještě své lokální hodiny řízené oscilujícími „hodinovými geny“. Hodinové geny regulují jak každodenní procesy buňky, tak mohou modulovat dlouhodobější procesy (Lin & al., 2009). Jejich exprese neprobíhá v SCN ani jiných částech mozku, přesto lokální cirkadiánní rytmy na signalizaci z hypothalamu závisí. Regulace lokálních hodinových genů se po pár cyklech utlumí, zatímco rytmy SCN přetrvávají i několik desítek dní. (Welsh & al., 2004; Tanioka & al., 2009)

Vzhledem ke komplexnosti kůže se předpokládá, že lokálních regulací je víc. V epidermis na cirkadiánních oscilacích závisí proliferace keratinocytů a růst vlasových folikulů. Geny cirkadiánních hodin exprimované ve vlnách svými transkripty modulují diferenciační a proliferační signály jako je TGF $\beta$  a vápenaté ionty. (Janich & al., 2013; Kumar & al., 2013) Zásadním faktorem pro proliferaci je BMAL1, jeden z faktorů centrální cirkadiánní regulaci. Společně s Clock jsou pozitivními faktory. K oscilacím transkripce dochází díky negativním faktorům Per a Cyr, které po navázání inhibují aktivitu BMAL1/Clock. Pozitivní faktory hrají klíčovou roli při opravě DNA a aktivaci kmenových buněk vlasového folikulu. (Geyfman & al., 2012; Guo & al., 2012; Kumar & al., 2013) Kromě toho se podílí na regulaci hydratace vrstvy stratum corneum. Exprese Aquaporinu 3 (Aqp3), který v bazální vrstvě epidermis reguluje obsah a transepidermální ztráty vody závisí na pozitivní regulaci Clock/BMAL1 a v případě mutace hodinových genů je snížena jak exprese Aqp3 tak hydratace stratum corneum. (Matsunaga & al., 2014) Cirkadiánní rytmy spojené s BMAL1 mají dále vliv na citlivost buněk vůči UV záření. Epidermální buňky proliferují kolem poledne v době nejvyšší intenzity UV záření a zároveň při jejich největší citlivosti vůči němu. V pozdním odpoledni zase prochází většina buněk S-fází buněčného cyklu. Rozvržení buněčného cyklu v těchto hodinách jasně přispívá ke vzniku rakoviny kůže. Otázkou zůstává, proč zde vznikly cirkadiánní rytmy. Předpokládá se, že chrání DNA keratinocytů před poškozením reaktivními formami kyslíku (ROS) a to oddělením procesů oxidativní fosforylace od proliferace. (Geyfman & al., 2012) Kromě karcinogeneze mohou poruchy cirkadiánních rytmů přispět k předčasnému stárnutí či chronickým ranám u seniorů. (Kumar & al., 2013) V růstovém cyklu vlasů během anagenu a telogenu jsou exprimovány hodinové geny v sekundárním vlasovém folikulu. (Lin & al., 2009) Pro

regulaci mají význam buňky dermální papily a epiteliální matrix. Buňky matrix generují denní mitotický cyklus. V ranních hodinách rostou vlasy rychleji než večer, ale zároveň jsou náchylnější vůči poškození DNA. V závislosti na denní době díky mitotickému cyklu mění vlasový folikul svou citlivost ke genotoxickému stresu. Důkazem toho je experiment provedený na myším modelu. Působení stejné dávky gama záření ráno způsobilo dramatickou ztrátu chlupů, avšak večer byly ztráty minimální.(Plikus & al., 2013) Šedivění je jednou z prvních známek stárnutí a zdá se, že i zde se uplatňují geny cirkadiálních rytmů. Ještě než dojde k nevratným změnám v kmenových buňkách melanocytů, ztrácí vlas svou pigmentaci. Pigmentace pokožky a vlasů je závislá na regulaci pomocí BMAL1 a Per genů. Produkci melaninu podporuje snížená funkce těchto genů lépe řečeno jejich umlčení vede ke zvýšení exprese a aktivity tyrozinázy, zvýšení exprese melanozomálního proteinu PMEL (glykoprotein 100, gp 100) a větší rozvětvenosti výběžků melanocytů, což se v důsledku projeví zvýšenou produkcí melaninu. (Hardman & al., 2015)

Hodinové geny se vyskytují i v dermis a hypodermis. Dermální fibroblasty jsou jedny z buněk často zmiňovaných ve studiích zabývajících se cirkadiálními rytmy a hodinovými geny. (Brown & al., 2008; Lippert & al., 2014) Tématu cirkadiální regulace kmenových buněk tukové tkáně se věnuje pouze málo publikací, avšak některé z nich naznačují souvislost mezi přímým působením hodinových genů na aktivitu tukových kmenových buněk. (Costa & al., 2011) Většina se zabývá cirkadiálními rytmy spojenými s adipocyty. Zde stejně jako v předešlých případech figuruje signalizace z SCN. Významnou roli hraje opět BMAL1. Jeho narušení vede ke zvýšení adipogeneze, hypertrofii adipocytů a obezitě, deficit pak podporuje adipogenní diferenciaci. Normálně je nadměrná adipogeneze potlačována přes Wnt dráhu, ovšem útlum funkce BMAL1 vede k down regulaci genů této dráhy a tím přetrvává stav tvorby nových adipocytů. Vztah mezi funkčností respektive dysregulací hodinových genů a adipocyty je spojován s rozvojem obezity. Potvrzuje to i fakt, že pracovníci ve směnném provozu mívají vyšší index tělesné hmotnosti, který souvisí s délkou směny popřípadě četností směn nočních.(Guo & al., 2012)

### **3.2. STÁRNUTÍ KOŽNÍCH KMENOVÝCH BUNĚK**

Se stářím spojená zhoršená funkce kmenových buněk má negativní dopad na regeneraci a homeostázi kůže. Stárnoucí kmenové buňky vykazují změny v diferenciaci a počtu buněk, přestávají tolerovat buněčný stres a snižují svou schopnost proliferace a



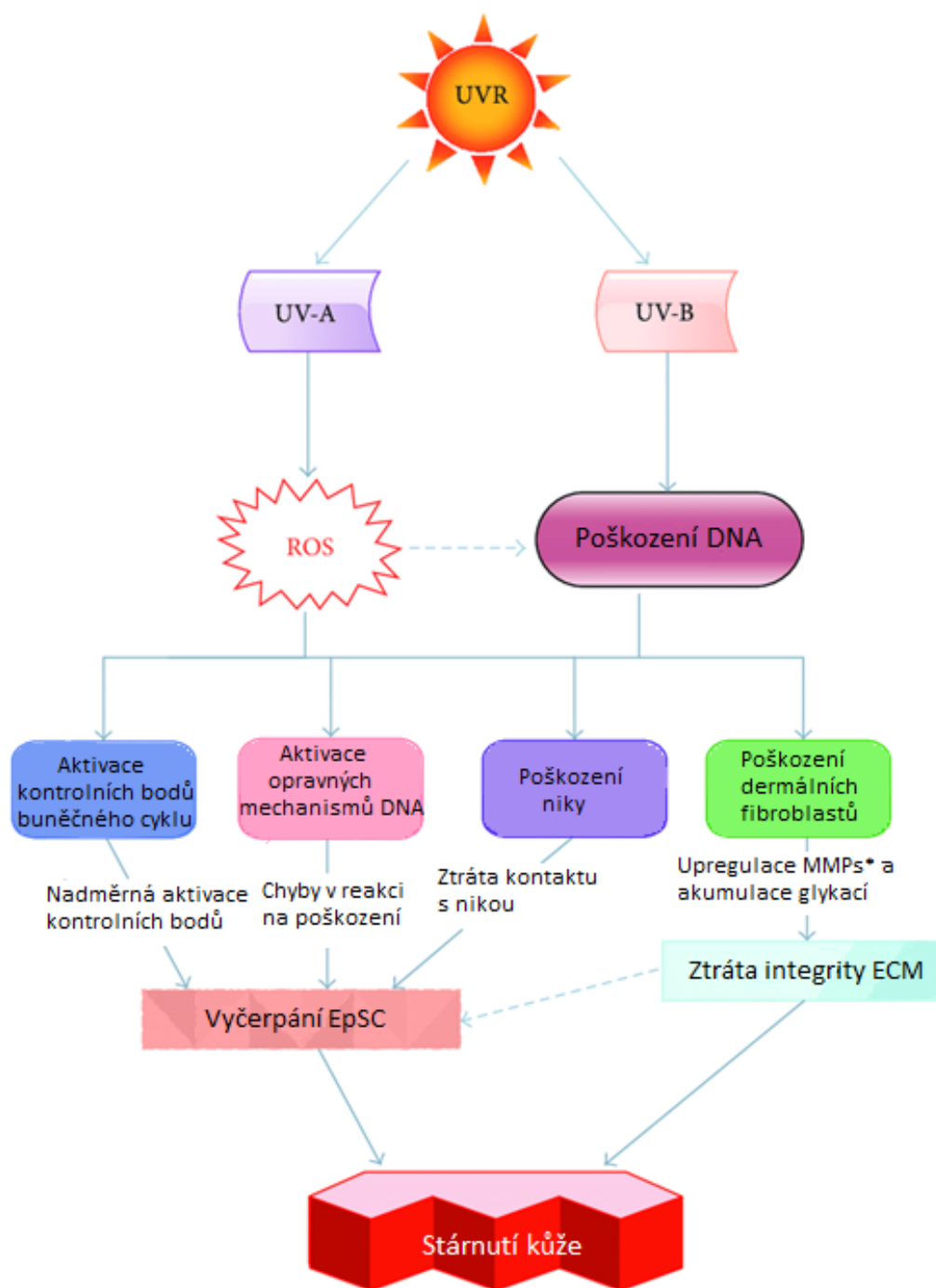
sebeobnovy. (Doles & al., 2012) V případě epidermálních kmenových buněk (EpSC) se však zdá, že kmenové buňky samy o sobě nestárnou. Při porovnání mladých a starých kmenových buněk z myši epidermis nedošlo k měřitelným změnám fyziologické funkční kapacity. (Stern & Bickenbach, 2007) Oproti jiným typům kmenových buněk jsou EpSC velice odolné vůči stárnutí, nevykazují změny v genové expresi ani zvýšené hladiny reaktivních forem kyslík, také neklesá jejich počet ani funkčnost. Mezi ochranné mechanismy patří např.: zvýšená exprese superoxiddismutázy 1, která katalyzuje odstranění superoxidu (reaktivní formy kyslíku), ten se podílí na oxidativním stresu poškozující DNA buňky. Další ochranným prvkem je převládající klidový stav buněk. Pouze 4% z celkové populace EpSC a to v každém okamžiku se nachází v S-G2 nebo M fázi. (Racila & Bickenbach, 2009) K fenotypu kmenové buňky také přispívá hedgehog (Hh) signalizace regulující transkripci markerů kmenových buněk. (Rittié & al., 2009)

Stárnutí epidermálních kmenových buněk ale vyvráceno není. Jedna studie poukazuje na tvorbu klonů kmenových buněk s rozdílným potenciálem proliferace, přičemž se podíl jednotlivých typů klonů s věkem mění. Potenciál schopnosti sebeobnovy je možné odhadnout u klonu po rozdělení a podle něj se klasifikují tři skupiny keratinocytů. Nejvyšší reprodukční kapacitu mají holoklony, které zřejmě pochází z kmenových buněk. Paraklony vznikají z TACs a vyznačují se krátkou replikační životností, už po 15 buněčných generacích neproliferují a terminálně diferencují. Meroklon je pak mezistupeň mezi holoklonem a paraklonem. Z hlediska stárnutí kůže je zajímavé, že s věkem ubývá holoklonů vzhledem k vyššímu podílu paraklonů (Barrandon & Green, 1987; Jones & Watt, 1993) Jinými slovy, ve stárnoucí kůži převládají klony s omezeným počtem dělení, což naznačuje, že nejspíš i EpSC prochází během stárnutí buněčnými změnami (Barrandon & Green, 1987). Tuto domněnku potvrzují změny v expresi  $\beta 1$  integrinu a MCSP (melanoma chondroitin sulfate proteoglykan) Běžně jsou exprimovány v buňkách s vysokou schopností sebeobnovy a jejich hladina zůstává po většinu života stejná, ale po 60 roce života začne klesat. K podobnému úbytku integrinu dochází vlivem chronického vystavení kůže UV záření. Snížení hladin  $\beta 1$  integrinu a MCSP je možnou příčinou změn v tloušťce kůže a její vaskularizaci, protože spolupracují s receptory růstových faktorů. (Giangreco & al., 2010)

Změny v kvalitě kmenových buněk jsou dobře rozeznatelné při šedivění vlasů, jedné z prvních známek stárnutí. Vlasové folikuly se obnovují mnohem pomaleji kvůli

změnám v regulaci aktivity kmenových buněk vlasových folikulů (HFSC). Fáze klidu se prodlužuje, protože klesá schopnost buněk zahájit nový vlasový cyklus. HFSC špatně proliferují a vykazují sníženou schopnost sebeobnovy. (Keyes & al., 2013) Poškození a neschopnost sebeobnovy se projevuje taky u kmenových buněk melanocytů (McSC) a stejně jako dysregulace cirkadiálních hodin se projevuje tvorbou šedivých vlasů. (Inomata & al., 2009; Hardman & al., 2015) V počátcích šedivění se stává populace McSC heterogenní. Niche kromě McSC uchovává ektopicky (mimo běžný výskyt) uložené melanocyty s typickou dendritickou morfologií. Ireverzibilní změny na úrovni DNA znemožňují obnovu McSC, takže většina takovýchto buněk podstupuje terminální diferenciaci v melanocyty spíše než apoptózu, díky tomuto mechanismu je zachován fond kvalitních kmenových buněk. Po vystavení nadměrnému genotoxickému stresu McSC diferencují v melanocyty už ve své niche, což bezpochyby vede k jejich vyčerpání a následnému šedivění vlasů. Tyto tzv. ektopické pigmentové melanocyty (EPM) opouští na konci anagenu mikroprostředí McSC. (Inomata & al., 2009)

Nejvýznamnější příčinou stárnutí kmenových buněk a stárnutí celkově je ultrafialové záření, které celý proces stárnutí významně urychluje, avšak může stát i za rozvojem rakoviny kůže. UV záření vyvolává v buňce změny až na molekulární úrovni, což pro buňku může být mnohdy fatální a to většinou pokud už není buňka schopná svou DNA opravit pomocí excisních oprav. Při ozáření vnikají v DNA různé pyrimidinové dimery a další fotoprodukty, které zodpovídají za inaktivaci aktivních částí DNA, podporují vznik mutací a v konečném důsledku způsobují smrt buňky. Vlnové délky UVB slunečního záření indukují vznik dimerů na všech dipyrimidinových místech a současně v relativně podobném množství. (Rochette & al., 2003) Epidermální kmenové buňky, které jsou uloženy hlouběji, UVB záření poškozuje především indukci tvorby ROS (reaktivních forem kyslíku), jež následně také poškozuje DNA. Podobně působí UVB i na dermální fibroblasty. (Lee & al., 2018; Deng & al., 2019)



\* Matrix metalloproteináza (MMP)

**Obr. 9: Působení UV záření na kůži.** Stárnutí kůže je způsobeno poškozením DNA epidermálních kmenových buněk (EpSC) vyvolaným UV zářením. Patří mezi hlavní stresory poškozující DNA buněk (UVB) a tvorbu toxických forem kyslíku ROS (UVA). Tyto změny dále ovlivňují aktivaci kontrolních bodů buněčného cyklu a kontrolu poškození DNA, poškozují niku kmenových buněk a dermální fibroblasty.

Vyčerpání EpSC a ztráta integrity ECM podporuje předčasné stárnutí kůže. Převzato z Panich & al., 2016 - upraveno

Stejně znepokojivé je působení vlnových délek UVA záření. Působí na DNA jednak přímo tím, že vytváří dipyrimidinové fotoprodukty konkrétně značné množství TT dimerů a jednak nepřímo aktivací fotosenzibilizátorů. Vytvářejí genotoxické singletové formy kyslíku, které následně oxidují guanin. Tyto změny se mohou rozsahem rovnat přímému poškození DNA a nejspíš přispívají k indukci rakoviny kůže. (Setlow, 1974; Kvam & Tyrrell, 1997; Rochette & al., 2003) Buňka se snaží po expozici UV záření opravit svou genetickou informaci, takže musí zastavit buněčný cyklus. Významně v tomto procesu působí transkripční faktory kontrolního bodu p53 a ATM. ATM vyvolává zastavení buněčného cyklu a opravu DNA pokud detekuje nějaké poškození. Faktor p53 se snaží předejít přeměně stresovaných a deregulovaných buněk na buňky rakovinné. Zabraňuje expanzi buněk s poškozenou DNA, což se při nadměrné aktivitě tohoto faktoru nebo jeho prodloužené aktivaci projeví sníženou schopností sebeobnovy u kmenových buněk. Pokud je tedy opravný aparát narušen vede to k akumulaci genomického poškození a předčasnému vyčerpání kmenových buněk. (Gannon & al., 2011; Panich & al., 2016)

V závislosti na stáří buňky se mění její schopnost vůbec reagovat na poškození. Mladé kmenové buňky v reakci na akutní poškození DNA z ozáření vedlo k navýšení jejich počtu, zatímco staré kmenové buňky nereagovaly. Předpokládá se, že tímto způsobem může dojít k jejich vyčerpání, protože nejsou schopné reagovat na buněčný stres. (Doles & al., 2012) Společně s poškozením DNA vlivem UV záření dochází ke zkracování telomer, produkci reaktivních forem kyslíku a změnám v niche, čímž se narušuje populace kmenových buněk. (Obr.9) (Panich & al., 2016)

Omezujícím faktorem životnosti buňky je délka telomer. HFSC se zkrácenými telomerami nereagují na mitogeny, obtíže mobilizují z niche vlasového folikulu a je u nich potlačena proliferativní kapacita. Viditelně se tyto změny projevují špatnou regenerací vlasů a pokožky, vypadáváním a šedivěním vlasů a zhoršeným hojením ran. Zkracování telomer u kmenových buněk kompenzuje aktivní telomeráza, ale její aktivita není dostatečná k udržení délky telomer během stárnutí a dochází k jejich postupnému zkracování. V případě vrozených nemocí s mutacemi v telomeráze je snížená aktivita telomerázy a délka telomer příčinou předčasné smrti. Experimentální

terapie na myším modelu poukázala na možnost léčby založené na aktivátorech telomerázy. Opětovné zavedení telomerázy dokáže krátké telomery znovu prodloužit bez zvýšeného rizika vzniku rakoviny. (Siegl-Cachedenier & al., 2007; Giangreco & al., 2008)

Narušení homeostázy epidermis přispívá k nerovnováze cytokinů. S narůstajícím věkem se v epidermis navyšuje jejich koncentrace, zatímco v dermis zůstává hladina cytokinů poměrně konstantní, přesto je aktivita a exprese detekovatelná v celé tkáni. Specifická signalizace cytokinů se podílí na regulaci kmenových buněk. Změny v těchto signálních drahách tak mohou zapříčinit jejich sníženou funkci. K největším změnám dochází v signálních drahách Jak-Stat a Notch. Inhibice dráhy Jak-Stat vedla k obnově proliferace u starých kmenových buněk. Bohužel se zdá, že je tato změna dočasná, protože po několika děleních se opět obnovil fenotyp stárnoucí kmenové buňky. Navíc inhibice jiných drah (Wnt, Hedgehog, Notch) takto nefunguje a některé faktory např. Il-1a mají negativní vliv na funkci kmenových buněk. (Doles & al., 2012) Mezi další faktory ovlivňující stárnutí kmenových buněk patří změny v niche, buněčná polarita, proteostáza, metabolický stav a produkce reaktivních forem kyslíku. (Schultz & Sinclair, 2016)

#### **4. KMENOVÉ BUŇKY V REGENERACI KŮŽE**

Všeobecně mají kmenové buňky značný potenciál stát se v budoucnu velice důležitým aspektem medicíny díky svým specifickým vlastnostem. Mají široký repertoár využití, přes transplantace, léčbu onemocnění a zranění, omlazení buněk přeprogramováním až po generování a využití indukovaných pluripotentních kmenových buněk (iPSC). Ty vznikají přeprogramováním pomocí transkripčních faktorů Oct3/4, Sox2, c-Myc a Klf4, a morfologií a růstovými vlastnostmi se shodují s embryonálními kmenovými buňkami. Jejich využití je hlavně pro vývoj léků, regenerativní medicínu, modulaci nemocí a porozumění regulace genů (Takahashi & Yamanaka, 2006; Papapetrou, 2016).

Pro hojení ran mají význam mesenchymální kmenové buňky (MSC). Přispívají k reparaci při patologických stavech a mají zajímavé vlastnosti. Dokáží se zachytit v oblastech zánětu a poškozených tkáních, modulují vrozené a adaptivní imunitní reakce a inhibují alloreaktivitu, což má své uplatnění při nahrazování buněk v kožních ranách a defektech. V regenerativní medicíně mají tedy velký potenciál, avšak zatím se nedaří

překonat špatné začlenění transplantovaných MSC do hostitelských tkání. Pouze malá část přežije a začlení se. (Khosrotehrani, 2013)

K vytvoření autologních kožních štěpů se využívá kultury keratinocytů vykultivovaných z epidermálních kmenových buněk (EpSC). Roku 1984 se díky této metodě podařilo zachránit dva chlapce s rozsáhlými popáleninami druhého a třetího stupně (Gallico & al., 1984). Bohužel není vždy zcela účinná a to ani při správné aplikaci. Špatné klinické výsledky tak omezují využití v běžné praxi. Důvodem může být ztráta holoklonů. Nesprávné kultivační podmínky, substráty a technologie mohou přispět k vyčerpání holoklonů stejně tak poškození základní vrstvy kultivovaného štěpu (Pellegrini & al., 1999). Kombinovaným barvením Hoechst s propidiem jodidu se bazální buňky epidermis dají rozdělit do tří frakcí a získat tak čistou kulturu životaschopných buněk. Ty jsou dále využitelné v bioinženýrství tkání a k testování trvalé rekombinantní genové exprese (Dunnwald & al., 2001). EpSC se dají využít v regenerativní medicíně i k léčbě jiných epitelů a kožních onemocnění. Poškozený povrch rohovky s nedostatkem limbálních kmenových buněk regeneruje po transplantaci EpSC. Poukazuje to experiment s kozou jako modelovým organismem. Epidermální kmenové buňky jsou indukovány k diferenciaci na epiteliální buňky rohovky (Yang & al., 2008). U králíků s poškozenou močovou trubicí kožní štěpy vedly k obnovení funkce močových cest, aniž by docházelo k zúžení v místě transplantace. Keratinocyty se plně začlenily do poškozené tkáně a fungovaly jako urothelium (Abraham & al., 2011). Kombinace genové a buněčné terapie se zřejmě bude používat k léčbě genetických kožních chorob. Jednou z nich je vzácné vrozené onemocnění bulózní epidermolýza, u kterého už je prokázáný reparativní vliv transplantovaných EpSC. Vzniklá transgenní epidermis je plně funkční a téměř nerozeznatelná od normální epidermis (De Rosa & al., 2014). Kožní štěpy s melanocyty trvale repigmentují epidermis postiženou vitiligem s poměrně velkou úspěšností (Falabella & al., 1992).

Kromě epidermálních kmenových buněk se do procesu hojení mohou zapojit i jiné kmenové buňky s širokým diferenciačním potenciálem. Pluripotentní kmenové buňky vlasového folikulu (hfPS) jsou schopné vytvářet keratinocyty a melanocyty, dále pak diferencují v neurony, glie nebo buňky hladkého svalstva (Amoh & al., 2009). Při léčbě nehojících se ran mohou také přispět kmenové buňky kostní dřeně (BMSC). Aplikace BMSC vede ke kožní přestavbě a uzavření nehojící se rány (Badiavas & Falanga, 2003). Stejně jako EpSC mohou přispět k reepitelizaci rohovky nebo močových cest, kmenové buňky dermis se dají využít při regeneraci hematopoetického systému, nervů a míchy.

Při částečném poškození hematopoetického systému ozářením se dermální multipotentní kmenové buňky (dMSC) podílí na obnově mikroprostředí kostní dřeně a zároveň podporují přežití a proliferaci krvetvorných kmenových buněk (SHI & al., 2004). Při poranění míchy jsou taktéž nadějí progenitorové buňky odvozené z kůže (SKPs) a dMSC. Přestože se od sebe liší proliferační kapacitou a diferenciacními tendencemi k potomkům mezodermální a neurální linie oba typy vykazují vysokou míru diferenciacce v Schwannovy buňky a neurony. Výhodou je taky, že se dají z jednoho místa izolovat oba typy buněk současně (Zong & al., 2012)

Kmenové buňky mají slibný terapeutický potenciál v léčbě různých onemocnění, avšak zatím zůstávají jejich aplikace pouze experimentální, neboť zde existují jistá omezení spojená s jejich využitím. Významná omezení plynou z etiky a s ní pak spojené politické regulace, další s těmito regulacemi spojenou překážkou je prozatím nedostatečné a neúplné pochopení mechanismů tohoto specifického typu buněk. Politicko-etické restrikce dávají přednost využití somatických linií kmenových buněk před embryonálními kmenovými buňkami, ty ovšem nemusí být pro terapie zcela vhodné. Využití somatických kmenových buněk čelí obavám z bezpečnosti a účinnosti po jejich transplantaci. Je potřeba kontrolovat migraci transplantovaných buněk, jejich kompatibilitu s příjemcem, protože se transplantované buňky nemusí vždy začlenit dle očekávání a účinnost terapie klesá. Nutné je taktéž zamezit možné tumorigenze. (Poulos, 2018)

## ZÁVĚR

Kůže, jakožto komplexní orgán, uchovává několik typů kmenových buněk s rozdílným potenciálem terminální diferenciacce. Už jen vlasový folikul uchovává heterogenní skupinu kmenových buněk, ta zahrnuje jak progenitorové buňky, tak multipotentní kmenové buňky s mnohem širším diferenciacčním potenciálem. Každá subpopulace kmenových buněk se podílí na rozdílných procesech, některé doplňují při poranění svrchní vrstvu buněk v epidermis, zatímco jiné se podílí na cyklické obnově vlasů či chlupů. Multipotentní kmenové buňky se nachází i v potních žlázách v dermis. Svůj zdroj obnovy má však také tuková tkáň, která se navíc podílí na vaskularizaci kůže.

K tomu aby si kmenové buňky uchovaly své vlastnosti, musí setrvávat ve specifickém mikroprostředí, které reguluje jejich fyziologii. Po většinu času se nachází v klidovém stavu, ovšem v případě potřeby jsou buňky aktivovány a přes své receptory

přijímají signály k zahájení proliferace. Při ztrátě kontaktu s nimi diferencuje, což je běžnou součástí každého dělení za účelem vzniku nových terminálně diferenciovanych buněk. Všechny kmenové buňky bez rozdílu mají schopnost tzv. asymetrického dělení, které jim umožňuje udržovat svůj stálý počet v tkáni a přesto vytvářet značná množství nových buněk pro obnovu a regeneraci tkáně. Tento zvláštní typ dělení je jedním z ochranných mechanismů kmenových buněk proti buněčnému stárnutí, ovšem mnohem více faktorů podporuje jejich stárnutí a proto i kmenové buňky zestárnou a jejich schopnost obnovovat tkáně upadá.

Mezi významné vlivy podporující stárnutí kmenových buněk rozhodně patří UV záření. Akutní i chronická expozice vlnovým délkám ultrafialového záření má negativní dopad na kmenové buňky. Narušuje integritu jejich genetické informace a v případě akumulace velkého množství mutací, které již není možné opravit, dochází k diferenciaci a tedy ztrátě kmenového stavu. Kmenové buňky s poškozenou DNA mnohem raději diferencují, než procházejí apoptózou, každopádně to negativně ovlivňuje jejich celkové množství v tkáni. Společně s dalšími negativními vlivy je pak ovlivněna i schopnost proliferace a vůbec aktivace stárnoucích kmenových buněk do nového buněčného cyklu.

V současné době zájem o kmenové buňky i jejich využití v buněčných terapiích stále narůstá a to díky jejich téměř neomezeným možnostem přeměnit se v jakýkoliv buněčný typ. Nejvhodnější jsou z tohoto hlediska pluripotentní embryonální kmenové buňky, ovšem současně zde působí etická omezení jejich využití. Tento fakt značně omezuje účinnost buněčných terapií, při kterých se v současné době využívají adultní somatické buňky. Jejich potenciál diferenciaci je menší a klesá i účinnost dané terapie. Přestože se tedy kožní kmenové buňky dají využít při léčbě kožních onemocnění, popáleninách nebo chronických ranách výsledek pro klinické využití není zatím dostačující. Velká část transplantovaných kmenových buněk nepřežije a nezačlení se do tkáně. Jistou nadějí pro regenerativní medicínu by tedy nakonec mohly být uměle vytvořené indukované pluripotentní kmenové buňky. Mají stejné vlastnosti jako buňky embryonální, avšak nejsou zde žádná etická omezení, protože pochází z již adultních kmenových buněk.



## LITERATURA

- \***ABE, Y., & TANAKA, N.** 2017, December 1. Roles of the Hedgehog signaling pathway in epidermal and hair follicle development, homeostasis, and cancer. *Journal of Developmental Biology*. MDPI Multidisciplinary Digital Publishing Institute. <https://doi.org/10.3390/jdb5040012>
- ABRAHAM, S., RIGGS, M. J., XIAO, E., ALSAYEGH, K., GADEPALLI, V., & RAO, R. R.** 2011. Generation, characterization and propagation of human-induced pluripotent stem cells. in: *Stem Cells: From Mechanisms to Technologies*. World Scientific Publishing Co. [https://doi.org/10.1142/9789814317931\\_0005](https://doi.org/10.1142/9789814317931_0005)
- \***AMOH, Y., & HOFFMAN, R. M.** 2017, November 17. Hair follicle-associated-pluripotent (HAP) stem cells. *Cell Cycle*. Taylor and Francis Inc. <https://doi.org/10.1080/15384101.2017.1356513>
- AMOH, Y., KANO, M., NIYAMA, S., HAMADA, Y., KAWAHARA, K., SATO, Y., HOFFMAN, R. M., & KATSUOKA, K.** 2009. Human hair follicle pluripotent stem (hfPS) cells promote regeneration of peripheral-nerve injury: An advantageous alternative to ES and iPS cells. *Journal of Cellular Biochemistry*, 107: 1016–1020. <https://doi.org/10.1002/jcb.22204>
- AMOH, Y., MI, S., AKI, R., HAMADA, Y., KAWAHARA, K., HOFFMAN, R. M., & KATSUOKA, K.** 2012. Multipotent nestin-expressing stem cells capable of forming neurons are located in the upper, middle and lower part of the vibrissa hair follicle. *Cell Cycle*, 11: 3513–3517. <https://doi.org/10.4161/cc.21803>
- ANCANS, J., TOBIN, D. J., HOOGLUIJN, M. J., SMIT, N. P., WAKAMATSU, K., & THODY, A. J.** 2001. Melanosomal pH Controls Rate of Melanogenesis, Eumelanin/Phaeomelanin Ratio and Melanosome Maturation in Melanocytes and Melanoma Cells. *Experimental Cell Research*, 268: 26–35. <https://doi.org/10.1006/EXCR.2001.5251>
- APRAJ, V. D., & PANDITA, N. S.** 2016. Evaluation of skin anti-aging potential of Citrus reticulata blanco peel. *Pharmacognosy Research*, 8: 160–168. <https://doi.org/10.4103/0974-8490.182913>
- BADIAVAS, E. V., & FALANGA, V.** 2003. Treatment of chronic wounds with bone marrow-derived cells. *Archives of Dermatology*, 139: 510–516. <https://doi.org/10.1001/archderm.139.4.510>
- BALORDI, F., & FISHELL, G.** 2007. Hedgehog signaling in the subventricular zone is required for both the maintenance of stem cells and the migration of newborn neurons. *Journal of Neuroscience*, 27: 5936–5947. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1040-07.2007>
- BARRANDON, Y., & GREEN, H.** 1987. Three clonal types of keratinocyte with different capacities for multiplication. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 84: 2302–2306. <https://doi.org/10.1073/pnas.84.8.2302>
- \***BENDER, K., BLATTNER, C., KNEBEL, A., IORDANOV, M., HERRLICH, P., & RAHMSDORF, H. J.** 1997, January 1. UV-induced signal transduction. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology*. Elsevier. [https://doi.org/10.1016/s1011-1344\(96\)07459-3](https://doi.org/10.1016/s1011-1344(96)07459-3)
- \***BLANPAIN, C., & FUCHS, E.** 2009. Epidermal homeostasis: A balancing act of stem cells in the skin. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrm2636>
- BOUISSOU, H., PIERAGGI, M. -T., JULIAN, M., & SAVAIT, T.** 1988. The Elastic Tissue of the

- Skin: A Comparison of Spontaneous and Actinic (Solar) Aging. *International Journal of Dermatology*, 27: 327–335. <https://doi.org/10.1111/j.1365-4362.1988.tb02363.x>
- BRAVERMAN, I. M., & FONFERKO, E.** 1982. Studies in cutaneous aging: I. The elastic fiber network. *Journal of Investigative Dermatology*, 78: 434–443. <https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12507866>
- BROWN, S. A., KUNZ, D., DUMAS, A., WESTERMARK, P. O., VANSELOW, K., TILMANN-WAHNSCHAFTE, A., HERZEL, H., & KRAMER, A.** 2008. Molecular insights into human daily behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105: 1602–1607. <https://doi.org/10.1073/pnas.070772105>
- CAMPISI, J.** 1998. The role of cellular senescence in skin aging. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings. Elsevier*, 3: 1–5. Retrieved from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1087002415301969>
- \*ČEDÍKOVÁ, M., KRAKOROVÁ, K., MIKLÍKOVÁ, M., HRONOVÁ, M., BALANDOVÁ, A., PITULE, P., & KRÁLÍČKOVÁ, M.** 2012. On-line atlas různých typů kmenových buněk a vybraných diferenciačních postupů. *Lékařská Fakulta v Plzni, Univerzita Karlova v Praze*, 37.
- \*CHEN, C. L., HUANG, W. Y., WANG, E. H. C., TAI, K. Y., & LIN, S. J.** 2020, March 14. Functional complexity of hair follicle stem cell niche and therapeutic targeting of niche dysfunction for hair regeneration. *Journal of Biomedical Science*. BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s12929-020-0624-8>
- \*CHEN, M., PRZYBOROWSKI, M., & BERTHIAUME, F.** 2009. Stem cells for skin tissue engineering and wound healing. *Critical Reviews in Biomedical Engineering*, 37: 399–421. <https://doi.org/10.1615/critrevbiomedeng.v37.i4-5.50>
- CHENG, C. C., TSUTSUI, K., TAGUCHI, T., SANZEN, N., NAKAGAWA, A., KAKIGUCHI, K., YONEMURA, S., TANEGASHIMA, C., KEELEY, S. D., KIYONARI, H., FURUTA, Y., TOMONO, Y., WATT, F. M., & FUJIWARA, H.** 2018. Hair follicle epidermal stem cells define a niche for tactile sensation. *ELife*, 7. <https://doi.org/10.7554/eLife.38883>
- COSTA, M. J., SO, A. Y. L., KAASIK, K., KRUEGER, K. C., PILLSBURY, M. L., FU, Y. H., PTACEK, L. J., YAMAMOTO, K. R., & FELDMAN, B. J.** 2011. Circadian rhythm gene period 3 is an inhibitor of the adipocyte cell fate. *Journal of Biological Chemistry*, 286: 9063–9070. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.164558>
- DAI, X., & SEGRE, J. A.** 2004, October. Transcriptional control of epidermal specification and differentiation. *Current Opinion in Genetics and Development*. NIH Public Access. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2004.07.002>
- DANBY, F. W.** 2010. Nutrition and aging skin: Sugar and glycation. *Clinics in Dermatology*, 28: 409–411. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2010.03.018>
- DANIELL, H. W.** 1971. Smoker's wrinkles. A study in the epidemiology of 'crow's feet'. *Annals of Internal Medicine*, 75: 873–880. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-75-6-873>
- DE ROSA, L., CARULLI, S., COCCHIARELLA, F., QUAGLINO, D., ENZO, E., FRANCHINI, E., GIANNETTI, A., DE SANTIS, G., RECCHIA, A., PELLEGRINI, G., & DE LUCA, M.** 2014. Long-term stability and safety of transgenic cultured epidermal stem cells in gene therapy of junctional epidermolysis bullosa. *Stem Cell Reports*, 2: 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2013.11.001>
- DENG, M., XU, Y., YU, Z., WANG, X., CAI, Y., ZHENG, H., LI, W., & ZHANG, W.** 2019. Protective Effect of Fat Extract on UVB-Induced Photoaging *In Vitro* and *In Vivo*.

*Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019: 6146942.  
<https://doi.org/10.1155/2019/6146942>

- \*DILORETO, R., & MURPHY, C. T.** 2015, December 15. The cell biology of aging. *Molecular Biology of the Cell*. American Society for Cell Biology. <https://doi.org/10.1091/mbc.E14-06-1084>
- DOLES, J., STORER, M., COZZUTO, L., ROMA, G., & KEYES, W. M.** 2012. Age-associated inflammation inhibits epidermal stem cell function. *Genes and Development*, 26: 2144–2153. <https://doi.org/10.1101/gad.192294.112>
- DRISKELL, R. R., CLAVEL, C., RENDL, M., & WATT, F. M.** 2011. Hair follicle dermal papilla cells at a glance. *Journal of Cell Science*, 124: 1179–1182. <https://doi.org/10.1242/jcs.082446>
- DUNNWALD, M., TOMANEK-CHALKLEY, A., ALEXANDRUNAS, D., FISHBAUGH, J., & BICKENBACH, J. R.** 2001. Isolating a pure population of epidermal stem cells for use in tissue engineering. *Experimental Dermatology*, 10: 45–54. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0625.2001.100106.x>
- FALABELLA, R., ESCOBAR, C., & BORRERO, I.** 1992. Treatment of refractory and stable vitiligo by transplantation of in vitro cultured epidermal autografts bearing melanocytes. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 26: 230–236. [https://doi.org/10.1016/0190-9622\(92\)70032-B](https://doi.org/10.1016/0190-9622(92)70032-B)
- FERRÓN, S. R., MARQUÉS-TORREJÓN, M. Á., MIRA, H., FLORES, I., TAYLOR, K., BLASCO, M. A., & FARIÑAS, I.** 2009. Telomere shortening in neural stem cells disrupts neuronal differentiation and neuritogenesis. *Journal of Neuroscience*, 29: 14394–14407. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3836-09.2009>
- \*FREEMAN, S. C., & SONTALIA, S.** 2019, January 9. Histology, Keratohyalin Granules. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30725734> (accessed 28 November 2019)
- FULLER, B. B., SPAULDING, D. T., & SMITH, D. R.** 2001. Regulation of the Catalytic Activity of Preexisting Tyrosinase in Black and Caucasian Human Melanocyte Cell Cultures. *Experimental Cell Research*, 262: 197–208. <https://doi.org/10.1006/excr.2000.5092>
- \*GALLICO, G. G., O’CONNOR, N. E., COMPTON, C. C., KEHINDE, O., & GREEN, H.** 1984. Permanent Coverage of Large Burn Wounds with Autologous Cultured Human Epithelium. *New England Journal of Medicine*, 311: 448–451. <https://doi.org/10.1056/NEJM198408163110706>
- GANNON, H. S., DONEHOWER, L. A., LYLE, S., & JONES, S. N.** 2011. Mdm2-p53 signaling regulates epidermal stem cell senescence and premature aging phenotypes in mouse skin. *Developmental Biology*, 353: 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2011.02.007>
- GEYFMAN, M., KUMAR, V., LIU, Q., RUIZ, R., GORDON, W., ESPITIA, F., CAM, E., MILLAR, S. E., SMYTH, P., IHLER, A., TAKAHASHI, J. S., & ANDERSEN, B.** 2012. Brain and muscle Arnt-like protein-1 (BMAL1) controls circadian cell proliferation and susceptibility to UVB-induced DNA damage in the epidermis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109: 11758–11763. <https://doi.org/10.1073/pnas.1209592109>
- GIANGRECO, A., GOLDIE, S. J., FAILLA, V., SAINTIGNY, G., & WATT, F. M.** 2010, February 1. Human skin aging is associated with reduced expression of the stem cell markers  $\beta 1$  integrin and MCSP. *Journal of Investigative Dermatology*. Elsevier. <https://doi.org/10.1038/jid.2009.297>

- GIANGRECO, A., QIN, M., PINTAR, J. E., & WATT, F. M. 2008. Epidermal stem cells are retained in vivo throughout skin aging. *Aging Cell*, 7: 250–259. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2008.00372.x>
- GOULD, L., ABADIR, P., BREM, H., CARTER, M., CONNER-KERR, T., DAVIDSON, J., DIPIETRO, L., FALANGA, V., FIFE, C., GARDNER, S., GRICE, E., HARMON, J., HAZZARD, W. R., HIGH, K. P., HOUGHTON, P., JACOBSON, N., KIRSNER, R. S., KOVACS, E. J., MARGOLIS, D., MCFARLAND HORNE, F., REED, M. J., SULLIVAN, D. H., THOM, S., TOMIC-CANIC, M., WALSTON, J., WHITNEY, J. A., WILLIAMS, J., ZIEMAN, S., & SCHMADER, K. 2015. Chronic wound repair and healing in older adults: Current status and future research. *Journal of the American Geriatrics Society*, 63: 427–438. <https://doi.org/10.1111/jgs.13332>
- GRECO, V., CHEN, T., RENDL, M., SCHOBER, M., PASOLLI, H. A., STOKES, N., DELA CRUZ-RACELIS, J., & FUCHS, E. 2009. A Two-Step Mechanism for Stem Cell Activation during Hair Regeneration. *Cell Stem Cell*, 4: 155–169. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2008.12.009>
- GROVE, G. L., & KLIGMAN, A. M. 1983. Age-associated Changes in Human Epidermal Cell Renewal. *Journal of Gerontology*, 38: 137–142. <https://doi.org/10.1093/geronj/38.2.137>
- GUO, B., CHATTERJEE, S., LI, L., KIM, J. M., LEE, J., YECHOOR, V. K., MINZE, L. J., HSUEH, W., & MA, K. 2012. The clock gene, brain and muscle Arnt-like 1, regulates adipogenesis via Wnt signaling pathway. *The FASEB Journal*, 26: 3453–3463. <https://doi.org/10.1096/fj.12-205781>
- \*GUO, S., & DIPIETRO, L. A. 2010. Critical review in oral biology & medicine: Factors affecting wound healing. *Journal of Dental Research*, 89: 219–229. <https://doi.org/10.1177/0022034509359125>
- HARA, M. R., KOVACS, J. J., WHALEN, E. J., RAJAGOPAL, S., STRACHAN, R. T., GRANT, W., TOWERS, A. J., WILLIAMS, B., LAM, C. M., XIAO, K., SHENOY, S. K., GREGORY, S. G., AHN, S., DUCKETT, D. R., & LEFKOWITZ, R. J. 2011. A stress response pathway regulates DNA damage through  $\beta$ 2- adrenoceptors and  $\beta$ -arrestin-1. *Nature*, 477: 349–353. <https://doi.org/10.1038/nature10368>
- HARDMAN, J. A., TOBIN, D. J., HASLAM, I. S., FARJO, N., FARJO, B., AL-NUAIMI, Y., GRIMALDI, B., & PAUS, R. 2015. The Peripheral Clock Regulates Human Pigmentation. *Journal of Investigative Dermatology*, 135: 1053–1064. <https://doi.org/10.1038/jid.2014.442>
- HUANG, X., TIAN, E., XU, Y., & ZHANG, H. 2009. The C. elegans engrailed homolog ceh-16 regulates the self-renewal expansion division of stem cell-like seam cells. *Developmental Biology*, 333: 337–47. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2009.07.005>
- INAGAKI, E., HATOU, S., HIGA, K., YOSHIDA, S., SHIBATA, S., OKANO, H., TSUBOTA, K., & SHIMMURA, S. 2017. Skin-Derived Precursors as a Source of Progenitors for Corneal Endothelial Regeneration. *STEM CELLS Translational Medicine*, 6: 788–798. <https://doi.org/10.1002/sctm.16-0162>
- INOMATA, K., AOTO, T., BINH, N. T., OKAMOTO, N., TANIMURA, S., WAKAYAMA, T., ISEKI, S., HARA, E., MASUNAGA, T., SHIMIZU, H., & NISHIMURA, E. K. 2009. Genotoxic Stress Abrogates Renewal of Melanocyte Stem Cells by Triggering Their Differentiation. *Cell*, 137: 1088–1099. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.03.037>
- JAMESON, J., UGARTE, K., CHEN, N., YACHI, P., FUCHS, E., BOISMENU, R., & HAVRAN, W. L. 2002. A role for skin  $\gamma\delta$  T cells in wound repair. *Science*, 296: 747–749. <https://doi.org/10.1126/science.1069639>

- JANICH, P., TOUFIGHI, K., SOLANAS, G., LUIS, N. M., MINKWITZ, S., SERRANO, L., LEHNER, B., & BENITAH, S. A.** 2013. Human epidermal stem cell function is regulated by circadian oscillations. *Cell Stem Cell*, 13: 745–753. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2013.09.004>
- JONES, P. H., & WATT, F. M.** 1993. Separation of human epidermal stem cells from transit amplifying cells on the basis of differences in integrin function and expression. *Cell*, 73: 713–724. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)90251-K](https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)90251-K)
- JOSHI, S. S., TANDUKAR, B., PAN, L., HUANG, J. M., LIVAK, F., SMITH, B. J., HODGES, T., MAHURKAR, A. A., & HORNYAK, T. J.** 2019. CD34 defines melanocyte stem cell subpopulations with distinct regenerative properties. *PLoS Genetics*, 15. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1008034>
- KASPER, M., JAKS, V., ARE, A., BERGSTRÖM, Å., SCHWÄGER, A., BARKER, N., & TOFTGÅRD, R.** 2011. Wounding enhances epidermal tumorigenesis by recruiting hair follicle keratinocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108: 4099–4104. <https://doi.org/10.1073/pnas.1014489108>
- KELLY, R. I., PEARSE, R., BULL, R. H., LEVEQUE, J. L., DE RIGAL, J., & MORTIMER, P. S.** 1995. The effects of aging on the cutaneous microvasculature. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 33: 749–756. [https://doi.org/10.1016/0190-9622\(95\)91812-4](https://doi.org/10.1016/0190-9622(95)91812-4)
- \*KENNEY, W. L.** 2017. Edward F. Adolph Distinguished Lecture: Skin-deep insights into vascular aging. *Journal of Applied Physiology*, 123: 1024–1038. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00589.2017>
- KEYES, B. E., SEGAL, J. P., HELLER, E., LIEN, W. H., CHANG, C. Y., GUO, X., ORISTIAN, D. S., ZHENG, D., & FUCHS, E.** 2013. Nfatc1 orchestrates aging in hair follicle stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110: E4950. <https://doi.org/10.1073/pnas.1320301110>
- \*KHORRAMINEJAD-SHIRAZI, M., DORVASH, M., ESTEDLAL, A., HOVEIDAEI, A. H., MAZLOOMREZAEI, M., & MOSADDEGHI, P.** 2019. Aging: A cell source limiting factor in tissue engineering. *World J Stem Cells*, 11: 787–802. <https://doi.org/10.4252/wjsc.v11.i10.787>
- KHOSROTEHRANI, K.** 2013. Mesenchymal stem cell therapy in skin: why and what for? *Experimental Dermatology*, 22: 307–310. <https://doi.org/10.1111/exd.12141>
- KOSTER, M. I., KIM, S., MILLS, A. A., DEMAYO, F. J., & ROOP, D. R.** 2004. p63 is the molecular switch for initiation of an epithelial stratification program. *Genes and Development*, 18: 126–131. <https://doi.org/10.1101/gad.1165104>
- KRETZSCHMAR, K., & WATT, F. M.** 2014. Markers of epidermal stem cell subpopulations in adult mammalian skin. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 4: a013631. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a013631>
- \*KRISHNAMURTHY, J., & SHARPLESS, N. E.** 2007, June 7. Stem Cells and the Rate of Living. *Cell Stem Cell*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2007.05.004>
- KUČEROVÁ, M. R., PH, D., BIENOVÁ, M. M., & PH, D.** 2012. Úvod do klinické trichologie, 6: 118–122.
- KUMAR, V., ANDERSEN, B., & TAKAHASHI, J. S.** 2013. Epidermal stem cells ride the circadian wave. *Genome Biology*, 14: 140. <https://doi.org/10.1186/gb4142>
- KVAM, E., & TYRRELL, R. M.** 1997. Induction of oxidative DNA base damage in human skin cells by UV and near visible radiation. *Carcinogenesis*, 18: 2379–2384.

<https://doi.org/10.1093/carcin/18.12.2379>

- KWON, O. S., YOO, H. G., HAN, J. H., LEE, S. R., CHUNG, J. H., & EUN, H. C.** 2008. Photoaging-associated changes in epidermal proliferative cell fractions in vivo. *Archives of Dermatological Research*, 300: 47–52. <https://doi.org/10.1007/s00403-007-0812-3>
- LANG, D., MASCARENHAS, J. B., & SHEA, C. R.** 2013. Melanocytes, melanocyte stem cells, and melanoma stem cells. *Clinics in Dermatology*, 31: 166–178. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2012.08.014>
- LECHLER, T., & FUCHS, E.** 2005. Asymmetric cell divisions promote stratification and differentiation of mammalian skin. *Nature*, 437: 275–280. <https://doi.org/10.1038/nature03922>
- LEE, J., OH, S. W., SHIN, S. W., LEE, K. W., CHO, J. Y., & LEE, J.** 2018. Zingerone protects keratinocyte stem cells from UVB-induced damage. *Chemico-Biological Interactions*, 279: 27–33. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2017.11.004>
- LI, K. N., JAIN, P., HE, C. H., EUN, F. C., KANG, S., & TUMBAR, T.** 2019. Skin vasculature and hair follicle cross- talking associated with stem cell activation and tissue homeostasis. *ELife*, 8. <https://doi.org/10.7554/eLife.45977>
- \*LI, L., & XIE, T.** 2005. STEM CELL NICHE: Structure and Function. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 21: 605–631. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.21.012704.131525>
- LI, X., MIAO, X., WANG, H., XU, Z., & LI, B.** 2015. The tissue dependent interactions between p53 and Bcl-2 in vivo. *Oncotarget*, 6: 35699–35709. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.5372>
- LI, Y., ZHANG, J., YUE, J., GOU, X., & WU, X.** 2017, September 1. Epidermal Stem Cells in Skin Wound Healing. *Advances in Wound Care*. Mary Ann Liebert Inc. <https://doi.org/10.1089/wound.2017.0728>
- LIN, G., GARCIA, M., NING, H., BANIE, L., GUO, Y. L., LUE, T. F., & LIN, C. S.** 2008. Defining stem and progenitor cells within adipose tissue. *Stem Cells and Development*, 17: 1053–1063. <https://doi.org/10.1089/scd.2008.0117>
- LIN, K. K., KUMAR, V., GEYFMAN, M., CHUDOVA, D., IHLER, A. T., SMYTH, P., PAUS, R., TAKAHASHI, J. S., & ANDERSEN, B.** 2009. Circadian clock genes contribute to the regulation of hair follicle cycling. *PLoS Genetics*, 5. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000573>
- LIPPERT, J., HALFTER, H., HEIDBREDER, A., RÖHR, D., GESS, B., BOENTERT, M., OSADA, N., & YOUNG, P.** 2014. Altered Dynamics in the Circadian Oscillation of Clock Genes in Dermal Fibroblasts of Patients Suffering from Idiopathic Hypersomnia. *PLoS ONE*, 9: e85255. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085255>
- \*LLEONART, M. E., ARTERO-CASTRO, A., & KONDOH, H.** 2009, January 8. Senescence induction; a possible cancer therapy. *Molecular Cancer*. BioMed Central. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-8-3>
- MATSUNAGA, N., ITCHO, K., HAMAMURA, K., IKEDA, E., IKEYAMA, H., FURUICHI, Y., WATANABE, M., KOYANAGI, S., & OHDO, S.** 2014. 24-hour rhythm of aquaporin-3 function in the epidermis is regulated by molecular clocks. *Journal of Investigative Dermatology*, 134: 1636–1644. <https://doi.org/10.1038/jid.2014.13>
- MERCHANT, A., JOSEPH, G., WANG, Q., BRENNAN, S., & MATSUI, W.** 2010. Gli1 regulates

- the proliferation and differentiation of HSCs and myeloid progenitors. *Blood*, 115: 2391–2396. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-09-241703>
- MINE, S., FORTUNEL, N. O., PAGEON, H., & ASSELINEAU, D.** 2008. Aging Alters Functionally Human Dermal Papillary Fibroblasts but Not Reticular Fibroblasts: A New View of Skin Morphogenesis and Aging. *PLoS ONE*, 3: e4066. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004066>
- MORGAN, B. A.** 2014. The dermal papilla: An instructive niche for epithelial stem and progenitor cells in development and regeneration of the hair follicle. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 4. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a015180>
- MORGNER, J., GHATAK, S., JAKOBI, T., DIETERICH, C., AUMAILLEY, M., & WICKSTRÖM, S. A.** 2015. Integrin-linked kinase regulates the niche of quiescent epidermal stem cells. *Nature Communications*, 6. <https://doi.org/10.1038/ncomms9198>
- MUFTI, A., AYELLO, E. A., & SIBBALD, R. G.** 2015. Anatomy and physiology of the skin. *Wound, Ostomy and Continence Nurses Society™ Core Curriculum: Wound Management*. <https://doi.org/10.1097/jdn.0b013e31823cccbe>
- NAGEL, S., ROHR, F., WEBER, C., KIER, J., SIEMERS, F., KRUSE, C., DANNER, S., BRANDENBURGER, M., & MATTHIESSEN, A. E.** 2013. Multipotent Nestin-Positive Stem Cells Reside in the Stroma of Human Eccrine and Apocrine Sweat Glands and Can Be Propagated Robustly In Vitro. *PLoS ONE*, 8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078365>
- NAKAYAMA, K., NAKAYAMA, K. I., NEGISHI, I., KUIDA, K., SAWA, H., & LOH, D. Y.** 1994. Targeted disruption of Bcl-2αβ in mice: Occurrence of gray hair, polycystic kidney disease, and lymphocytopenia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91: 3700–3704. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.9.3700>
- \*NUSCHKE, A.** 2014. Activity of mesenchymal stem cells in therapies for chronic skin wound healing. *Organogenesis*. Landes Bioscience. <https://doi.org/10.4161/org.27405>
- OIKARINEN, A.** 1977. Effect of cortisol acetate on collagen biosynthesis and on the activities of prolyl hydroxylase, lysyl hydroxylase, collagen galactosyltransferase and collagen glucosyltransferase in chick-embryo tendon cells. *Biochemical Journal*, 164: 533–539. <https://doi.org/10.1042/bj1640533>
- \*OJEH, N., PASTAR, I., TOMIC-CANIC, M., & STOJADINOVIC, O.** 2015. Stem Cells in Skin Regeneration, Wound Healing, and Their Clinical Applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 16: 25476–501. <https://doi.org/10.3390/ijms161025476>
- \*PANICH, U., SITTITHUMCHAREE, G., RATHVIBOON, N., & JIRAWATNOTAI, S.** 2016. Ultraviolet Radiation-Induced Skin Aging: The Role of DNA Damage and Oxidative Stress in Epidermal Stem Cell Damage Mediated Skin Aging. *Stem Cells International*, 2016: 7370642. <https://doi.org/10.1155/2016/7370642>
- PAPAPETROU, E. P.** 2016, September 2. Induced pluripotent stem cells, past and future. *Science*. American Association for the Advancement of Science. <https://doi.org/10.1126/science.aai7626>
- PAUS, R., VAN DER VEEN, C., EICHMÜLLER, S., KOPP, T., HAGEN, E., MÜLLER-RÖVER, S., & HOFMANN, U.** 1998. Generation and cyclic remodeling of the hair follicle immune system in mice. *Journal of Investigative Dermatology*, 111: 7–18. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1747.1998.00243.x>
- PELLEGRINI, G., RANNO, R., STRACUZZI, G., BONDANZA, S., GUERRA, L., ZAMBRUNO, G., MICALI, G., & DE LUCA, M.** 1999. The control of epidermal stem cells (holoclones) in

- the treatment of massive full-thickness burns with autologous keratinocytes cultured on fibrin. *Transplantation*, 68: 868–879. <https://doi.org/10.1097/00007890-199909270-00021>
- PLIKUS, M. V., VAN SPYK, E. N., PHAM, K., GEYFMAN, M., KUMAR, V., TAKAHASHI, J. S., & ANDERSEN, B.** 2015, June 4. The circadian clock in skin: Implications for adult stem cells, tissue regeneration, cancer, aging, and immunity. *Journal of Biological Rhythms*. SAGE Publications Inc. <https://doi.org/10.1177/0748730414563537>
- PLIKUS, M. V., VOLLMERS, C., DE LA CRUZ, D., CHAIX, A., RAMOS, R., PANDA, S., & CHUONG, C. M.** 2013. Local circadian clock gates cell cycle progression of transient amplifying cells during regenerative hair cycling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110. <https://doi.org/10.1073/pnas.1215935110>
- \*POULOS, J.** 2018, January 2. The limited application of stem cells in medicine: A review. *Stem Cell Research and Therapy*. BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s13287-017-0735-7>
- RACILA, D., & BICKENBACH, J. R.** 2009. Are epidermal stem cells unique with respect to aging? *Aging*, 1: 746–750. <https://doi.org/10.18632/aging.100082>
- RESSLER, S., BARTKOVA, J., NIEDEREGGER, H., BARTEK, J., SCHARFFETTER-KOCHANKE, K., JANSEN-DURR, P., & WLASCHEK, M.** 2006. p16<sup>INK4A</sup> is a robust in vivo biomarker of cellular aging in human skin. *Aging Cell*, 5: 379–389. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2006.00231.x>
- RHEINWALD, J. G., & GREEN, H.** 1977. Epidermal growth factor and the multiplication of cultured human epidermal keratinocytes. *Nature*, 265: 421–424. <https://doi.org/10.1038/265421a0>
- RITTIÉ, L., & FISHER, G. J.** 2015. Natural and sun-induced aging of human skin. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 5. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a015370>
- RITTIÉ, L., STOLL, S. W., KANG, S., VOORHEES, J. J., & FISHER, G. J.** 2009. Hedgehog signaling maintains hair follicle stem cell phenotype in young and aged human skin. *Aging Cell*, 8: 738–751. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2009.00526.x>
- ROCHETTE, P. J., THERRIEN, J., DROUIN, R., PERDIZ, D., BASTIEN, N., DROBETSKY, E. A., & SAGE, E.** 2003. UVA-induced cyclobutane pyrimidine dimers form predominantly at thymine–thymine dipyrimidines and correlate with the mutation spectrum in rodent cells. *Nucleic Acids Research*, 31: 2786–2794. <https://doi.org/10.1093/nar/gkg402>
- \*RUZANKINA, Y., & BROWN, E. J.** 2007, November 5. Relationships between stem cell exhaustion, tumour suppression and ageing. *British Journal of Cancer*. Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6604029>
- \*SCHULTZ, M. B., & SINCLAIR, D. A.** 2016, January 1. When stem cells grow old: Phenotypes and mechanisms of stem cell aging. *Development (Cambridge)*. Company of Biologists Ltd. <https://doi.org/10.1242/dev.130633>
- SETLOW, R. B.** 1974. The wavelengths in sunlight effective in producing skin cancer: A theoretical analysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 71: 3363–3366. <https://doi.org/10.1073/pnas.71.9.3363>
- SHI, C.-M., CHENG, T.-M., SU, Y.-P., MAI, Y., QU, J.-F., & RAN, X.-Z.** 2004. Transplantation of Dermal Multipotent Cells Promotes the Hematopoietic Recovery in Sublethally Irradiated Rats. *Journal of Radiation Research*, 45: 19–24. <https://doi.org/10.1269/jrr.45.19>



- \*SHPICHKA, A., BUTNARU, D., BEZRUKOV, E. A., SUKHANOV, R. B., ATALA, A., BURDUKOVSKII, V., ZHANG, Y., & TIMASHEV, P.** 2019, March 15. Skin tissue regeneration for burn injury. *Stem Cell Research and Therapy*. BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s13287-019-1203-3>
- SIEGL-CACHEDENIER, I., FLORES, I., KLATT, P., & BLASCO, M. A.** 2007. Telomerase reverses epidermal hair follicle stem cell defects and loss of long-term survival associated with critically short telomeres. *Journal of Cell Biology*, 179: 277–290. <https://doi.org/10.1083/jcb.200704141>
- Sleep deprivation linked to aging skin, study suggests -- ScienceDaily. 2013, July 23. <https://www.sciencedaily.com/releases/2013/07/130723155002.htm> (accessed 23 May 2020)
- \*SOLIS, M. A., CHEN, Y.-H., WONG, T. Y., BITTENCOURT, V. Z., LIN, Y.-C., & HUANG, L. L. H.** 2012. Hyaluronan regulates cell behavior: a potential niche matrix for stem cells. *Biochemistry Research International*, 2012: 346972. <https://doi.org/10.1155/2012/346972>
- STERN, M. M., & BICKENBACH, J. R.** 2007. Epidermal stem cells are resistant to cellular aging. *Aging Cell*, 6: 439–452. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2007.00318.x>
- \*STEVENSON, S., & THORNTON, J.** 2007. Effect of estrogens on skin aging and the potential role of SERMs. *Clinical Interventions in Aging*. Dove Press. <https://doi.org/10.2147/cia.s798>
- SYU, W. Z., CHEN, S. G., CHAN, J. Y. H., WANG, C. H., DAI, N. T., & HUANG, S. M.** 2019. The Potential of Acellular Dermal Matrix Combined With Neural Stem Cells Induced From Human Adipose-Derived Stem Cells in Nerve Tissue Engineering. *Annals of Plastic Surgery*, 82: S108–S118. <https://doi.org/10.1097/SAP.0000000000001731>
- TAKAHASHI, K., & YAMANAKA, S.** 2006. Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell*, 126: 663–676. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.07.024>
- \*TAN, X., GONG, Y. Z., WU, P., LIAO, D. F., & ZHENG, X. L.** 2014, August 18. Mesenchymal stem cell-derived microparticles: A promising therapeutic strategy. *International Journal of Molecular Sciences*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/ijms150814348>
- TANIOKA, M., YAMADA, H., DOI, M., BANDO, H., YAMAGUCHI, Y., NISHIGORI, C., & OKAMURA, H.** 2009. Molecular clocks in mouse skin. *Journal of Investigative Dermatology*, 129: 1225–1231. <https://doi.org/10.1038/jid.2008.345>
- TARIG OSMAN.** 2014. Asymmetrical division of stem cells resulting in one daughter stem cell... | Download Scientific Diagram. [https://www.researchgate.net/figure/Asymmetrical-division-of-stem-cells-resulting-in-one-daughter-stem-cell-and-a-committed\\_fig3\\_265694723](https://www.researchgate.net/figure/Asymmetrical-division-of-stem-cells-resulting-in-one-daughter-stem-cell-and-a-committed_fig3_265694723) (accessed 22 May 2020)
- \*TAUB, A. F., & PHAM, K.** 2018, November 1. Stem Cells in Dermatology and Anti-aging Care of the Skin. *Facial Plastic Surgery Clinics of North America*. W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.fsc.2018.06.004>
- TOMASETTI, C., & VOGELSTEIN, B.** 2015. Variation in cancer risk among tissues can be explained by the number of stem cell divisions. *Science*, 347: 78–81. <https://doi.org/10.1126/science.1260825>
- TROJAN, LANGMEIER, M.** 2003. *Lékařská fyziologie* (4th ed.). Grada Publishing, a.s.

- TUR, E., OREN-VULFS, S., & YOSIPOVITCH, G.** 1992. Chronic and Acute Effects of Cigarette Smoking on Skin Blood Flow. *Angiology*, 43: 328–335.  
<https://doi.org/10.1177/000331979204300407>
- VARANI, J., DAME, M. K., RITTIE, L., FLIGIEL, S. E. G., KANG, S., FISHER, G. J., & VOORHEES, J. J.** 2006. Decreased collagen production in chronologically aged skin: Roles of age-dependent alteration in fibroblast function and defective mechanical stimulation. *American Journal of Pathology*, 168: 1861–1868.  
<https://doi.org/10.2353/ajpath.2006.051302>
- \*VASHI, N. A., DE CASTRO MAYMONE, M. B., & KUNDU, R. V.** 2016, January 1. Aging differences in ethnic skin. *Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology*. Matrix Medical Communications.
- VIERKÖTTER, A., SCHIKOWSKI, T., RANFT, U., SUGIRI, D., MATSUI, M., KRÄMER, U., & KRUTMANN, J.** 2010. Airborne particle exposure and extrinsic skin aging. *Journal of Investigative Dermatology*, 130: 2719–2726. <https://doi.org/10.1038/jid.2010.204>
- \*WABIK, A., & JONES, P. H.** 2015. Switching roles: the functional plasticity of adult tissue stem cells. *The EMBO Journal*, 34: 1164–79. <https://doi.org/10.15252/embj.201490386>
- WANG, F. F., WANG, Q., CHEN, Y., LIN, Q., GAO, H. B., & ZHANG, P.** 2012. Chronic stress induces ageing-associated degeneration in rat Leydig cells. *Asian Journal of Andrology*, 14: 643–648. <https://doi.org/10.1038/aja.2011.183>
- WANG, G. Y., WANG, J., MANCIANTI, M. L., & EPSTEIN, E. H.** 2011. Basal cell carcinomas arise from hair follicle stem cells in Ptc1<sup>+/-</sup> mice. *Cancer Cell*, 19: 114–124.  
<https://doi.org/10.1016/j.ccr.2010.11.007>
- \*WANG, X.** 2019, October 1. Stem cells in tissues, organoids, and cancers. *Cellular and Molecular Life Sciences*. Birkhauser Verlag AG. <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03199-x>
- WELSH, D. K., YOO, S. H., LIU, A. C., TAKAHASHI, J. S., & KAY, S. A.** 2004. Bioluminescence imaging of individual fibroblasts reveals persistent, independently phased circadian rhythms of clock gene expression. *Current Biology*, 14: 2289–2295.  
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2004.11.057>
- WHITE, A. C., TRAN, K., KHUU, J., DANG, C., CUI, Y., BINDER, S. W., & LOWRY, W. E.** 2011. Defining the origins of Ras/p53-mediated squamous cell carcinoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108: 7425–7430.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1012670108>
- WINKELMANN, R. K., & BREATHNACH, A. S.** 1973. The Merkel cell. *The Journal of Investigative Dermatology*, 60: 2–15. <https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep13069480>
- YAMADA, T., HASEGAWA, S., MIYACHI, K., DATE, Y., INOUE, Y., YAGAMI, A., ARIMA, M., IWATA, Y., YAMAMOTO, N., NAKATA, S., MATSUNAGA, K., SUGIURA, K., & AKAMATSU, H.** 2018. Laminin-332 regulates differentiation of human interfollicular epidermal stem cells. *Mechanisms of Ageing and Development*, 171: 37–46.  
<https://doi.org/10.1016/j.mad.2018.03.007>
- YANG, X., MOLDOVAN, N. I., ZHAO, Q., MI, S., ZHOU, Z., CHEN, D., GAO, Z., TONG, D., & DOU, Z.** 2008. Reconstruction of damaged cornea by autologous transplantation of epidermal adult stem cells. *Molecular Vision*, 14: 1064–1074.
- \*YOUSEF, H., & SHARMA, S.** 2018. *Anatomy, Skin (Integument), Epidermis*. StatPearls. StatPearls Publishing. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29262154>

**\*ZAKRZEWSKI, W., DOBRZYŃSKI, M., SZYMONOWICZ, M., & RYBAK, Z.** 2019, February 26. Stem cells: Past, present, and future. *Stem Cell Research and Therapy*. BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s13287-019-1165-5>

**ZONG, Z., LI, N., RAN, X., SU, Y., SHEN, Y., SHI, C. MENG, & CHENG, T. MIN.** 2012. Isolation and Characterization of Two Kinds of Stem Cells from the Same Human Skin Back Sample with Therapeutic Potential in Spinal Cord Injury. *PLoS ONE*, 7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0050222>

\* sekundární zdroj